

Aus dem Psychopharmakologischen Forschungslabor
der HOECHST AG, Frankfurt-Höchst

**In - vivo - Untersuchungen über den Einfluß
von Nomifensin auf die Aufnahme von Noradrenalin,
die Gleichgewichtsspiegel und die Neusynthese von
Katecholaminen im Herzen und Hirn der Ratte**

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz

dem Medizinischen Fachbereich
vorgelegt von
ANNETTE SCHMITZ
aus Fulda

Mainz 1978

1979



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Psychopharmakologischen Forschungslabor
der HOECHST AG, Frankfurt-Höchst

In - vivo - Untersuchungen über den Einfluß
von Nomifensin auf die Aufnahme von Noradrenalin,
die Gleichgewichtsspiegel und die Neusynthese von
Katecholaminen im Herzen und Hirn der Ratte

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz

dem Medizinischen Fachbereich

vorgelegt von

Annette Schmitz

aus

Fulda

M a i n z 1978



Tag der mündlichen Prüfung : 11.7.1979

Dekan : Prof. Dr. med. H. Leithoff

1. Gutachter : Prof. Dr. med. E. Muscholl

2. Gutachter : Prof. Dr. med. H. Kilbinger

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
1. EINLEITUNG	1
1.1. Erläuterung der Monoaminhypothese	1
1.2. Wirkungsmechanismen der trizyklischen Antidepressiva	1
1.3. Klinische Effekte der trizyklischen Antidepressiva	2
1.4. Wirkungsmechanismen zentraler Stimulantien am Beispiel des Amphetamin	3
1.5. Klinische Effekte zentraler Stimulantien	4
1.6. Bisher bekannte pharmakologische und biochemische Wirkungsmechanismen des Nomifensin	4
1.7. Ergebnisse der klinischen Prüfung von Nomifensin	7
1.8. Aufgabe der Arbeit	8
2. MATERIAL und METHODEN	9
2.1. Tiermaterial	9
2.2. Chemikalien und Arzneimittel	9
2.3. Vorbereitung der Ionenaustauschersäulen	10
2.4. Gewebeaufbereitung	11
2.5. Fraktionierung und Elution der Katecholamine aus den Ionenaustauschersäulen	11
2.6. Aluminiumoxid-Adsorption und Elution der Katecholamine	12
2.7. Fluorometrische Noradrenalin-Bestimmung	13
2.8. Berechnung der Probenkonzentrationen	13
2.9. Berechnung der Säulenausbeuten	14
2.10. Radioaktivitätsmessungen	15
2.11. Fluorometrische Dopamin-Bestimmung	16
2.12. L-DOPA-Säulenfraktionierung und Bestimmung	17
2.13. Bestimmung der ^3H -Noradrenalin-Aufnahme ins Rattenherz	18
2.14. Statistische Methoden	19

3.	ERGEBNISSE	20
3.1.	Noradrenalin-Konzentrationen im Rattenherzen	20
3.2.	Hemmung der Tyramin-, Guanethidin- bzw. 6-Hydroxydopamin-induzierten Noradrenalin-Entleerung am Rattenherzen	20
3.3.	Hemmung der ^3H -Noradrenalin-Aufnahme im Rattenherzen	25
3.4.	Noradrenalin- und Dopamin-Konzentrationen im Rattenhirn, akute Behandlung	27
3.5.	Noradrenalin- und Dopamin-Konzentrationen im Rattenhirn, subakute Behandlung	27
3.6.	L-DOPA-Anschoppung nach NSD 1015 a) Striatum und frontaler Cortex b) Striatum	31
3.7.	Verhalten der Tiere, Verträglichkeit der Dosierungen	35
4.	DISKUSSION	39
4.1.	Synopsis der bekannten biochemischen Effekte von Nomifensin	39
4.2.	Aussagen der eigenen Ergebnisse mit Nomifensin	40
4.3.	Kongruenz bzw. Differenz der eigenen Ergebnisse mit Nomifensin im Vergleich mit Literatur-bekannten Daten	42
4.4.	Beurteilung der eigenen Ergebnisse mit den Vergleichssubstanzen DMI und Amphetamin im Licht der Literatur-bekannten Daten über diese Verbindungen	42
4.5.	Versuch einer Einordnung von Nomifensin an Hand der eigenen und Literatur-bekannten Daten zur Pharmakologie, Biochemie und Klinik in das Spektrum der antidepressiv wirkenden Substanzen	45
5.	ZUSAMMENFASSUNG	47
6.	LITERATURVERZEICHNIS	49
7.	ANHANG	

1. EINLEITUNG

1.1. Erläuterung der Monoaminhypothese

SCHILDKRAUT und KETY (1967), LAPIN und OXENKRUG (1969) und COPPEN (1973) vertraten mit der Monoaminhypothese die Auffassung, daß depressive Erscheinungsformen durch eine Verminderung der Konzentration oder Verfügbarkeit von Aminen im Gehirn hervorgerufen werden. Sie nehmen an, daß die Erniedrigung der Transmitterkonzentration am postsynaptischen Rezeptor die depressive Symptomatik herbeiführt.

Eine Normalisierung dieser Fehlfunktion ist mit Hilfe von pharmakologisch wirksamen Substanzen auf unterschiedliche Weise erreichbar. Nach der Monoaminhypothese muß das Ziel aller Behandlungsversuche eine Erhöhung der Transmitterkonzentrationen am Rezeptor oder eine Verstärkung der Neurotransmitterwirkung sein. Dies ist möglich über eine Steigerung der Monoaminsynthese durch Aktivierung der Tyrosin- bzw. Tryptophanhydroxylase oder durch eine medikamentös induzierte Steigerung der Transmitterfreisetzung. Ferner kann man die Wiederaufnahme der biogenen Amine als einen der wichtigsten Inaktivierungsmechanismen hemmen. Eine Verlangsamung des Abbaus durch Hemmung der metabolisierenden Enzyme bedingt eine Erhöhung der intrazellulären Transmitterkonzentration. Ebenso ist eine direkte Stimulation der Rezeptoren durch Pharmaka möglich.

1.2. Wirkungsmechanismen der trizyklischen Antidepressiva

Zur Therapie depressiver Krankheitsbilder wurden bisher hauptsächlich trizyklische Antidepressiva verwendet. Ihre Wirkung soll auf einer kompetitiven Blockade der Membranpumpe für den Transport der biogenen Amine in zentrale und periphere Neuronen

beruhen. Als Folge dieser Aufnahmehemmung auf der Ebene der neuronalen Zellmembran steigen die Transmitterkonzentrationen im synaptischen Spalt an. Daraus resultiert eine Verstärkung der Transmitterwirkungen (CARLSSON 1970; IVERSEN 1971, 1973; TRENDELENBURG 1972). Da die trizyklischen Antidepressiva ihren stärksten inhibitorischen Effekt bei der Blockade der Aufnahme von Noradrenalin (NA) und Serotonin (5-Hydroxytryptamin, 5-HT) entfalten und ihr Einfluß auf die Dopamin (DA)-Aufnahme nur sehr gering ist, liegt ein Hauptangriffspunkt dieser Antidepressiva im Gehirn im stark noradrenerg innervierten Hypothalamusgebiet (SCHEEL-KRÜGER 1972; SCHACHT und HEPTNER 1974; BEVAN et al. 1975; CHATTERJEE 1976). Bisher beobachtete man nach Verabreichung von trizyklischen Antidepressiva weder eine Hemmung der Monoaminoxidase, eines metabolisierenden Enzyms, noch eine gesteigerte Amin-Freisetzung (KOE und CONSTANTINE 1972; RAITERI et al. 1974; CHATTERJEE 1976).

Obwohl sich die trizyklischen Antidepressiva chemisch sehr ähneln, weisen die verschiedenen Pharmaka aus dieser Stoffgruppe doch unterschiedliche biochemische Effekte auf: Desmethylimipramin (DMI) und Nortriptylin hemmen stärker die NA-Aufnahme, während Amitriptylin und Chlorimipramin stärker die 5-HT-Aufnahme beeinflussen (CARLSSON et al. 1969). Imipramin liegt etwa in der Mitte zwischen diesen beiden Gruppen (ROSS und RENYI 1975).

1.3. Klinische Effekte der trizyklischen Antidepressiva

Auch klinisch lassen sich diese unterschiedlichen Wirkungskomponenten nachweisen. Neben der von allen trizyklischen Antidepressiva hervorgerufenen Depressionslösung wirken das in unseren Versuchen als Vergleichspräparat verwendete DMI sowie auch Nortriptylin hauptsächlich antriebssteigernd;

Amitriptylin und Chlorimipramin zeigen dagegen einen psychomotorisch dämpfenden Effekt. Imipramin führt zu einer Stimmungsaufhellung (KIELHOLZ und PÖLDINGER 1968).

Die Mehrzahl der trizyklischen Antidepressiva ruft dosisabhängige vegetative Nebenwirkungen hervor. Besonders atropinartige Nebenwirkungen an Auge, Darm, Blase, orthostatische Regulationsstörungen, Tachykardie und feinschlägiger Fingertremor, aber auch psychische Komplikationen wie delirante Bilder und Durchgangssyndrome werden beobachtet. Einen schwerwiegenden Nachteil in der Langzeittherapie mit trizyklischen Antidepressiva stellt die Gefahr der toxischen Kardiomyopathie dar (BICKEL 1975; BARTH und MUSCHOLL 1976; RASENACK und GATTENLÖHNER 1976).

1.4. Wirkungsmechanismen zentraler Stimulantien am Beispiel des Amphetamin

Als Vergleichspräparat aus der Gruppe der zentralen Stimulantien wurde bei unseren Versuchen Amphetamin gewählt. Dieses Pharmakon ruft im Organismus eine Vielzahl von z. T. noch ungeklärten biochemischen Veränderungen hervor. Amphetamin-Gabe führt zur Erregung des gesamten sympathischen Systems. In der Peripherie induziert Amphetamin eine Steigerung der Ruhefreisetzung von NA sowie eine Erhöhung der durch Nervenreizung bewirkten NA-Freisetzung (v. EULER und LISHAJKO 1968; LÖFFELHOLZ und MUSCHOLL 1970; ENNA und SHORE 1974). Eine weitere Erhöhung der Transmitterkonzentration im synaptischen Spalt bewirkt Amphetamin durch eine Aufnahme-Hemmung für Katecholamine (BURGEN und IVERSEN 1965; GLOWINSKI und AXELROD 1965; KOE und CONSTANTINE 1972; RAITERI et al. 1974; HEIKKILA et al. 1975). Auch eine den intraneuronalen Aminabbau hemmende Wirkung durch Inhibition der Monoaminoxidase wird Amphetamin

zugeschrieben (SCHEEL-KRÜGER 1972). Im Gehirn ist die DA-Freisetzung nach Gabe von Amphetamin mehrmals beschrieben worden (v.EULER 1973; HEIKKILA et al. 1975). Durch diese Mechanismen steigen nach Amphetamin-Gabe die Konzentrationen von NA und DA im synaptischen Spalt an und führen so zu einer Verstärkung von deren Wirkungen. Amphetamin steigert selbst dann noch die DA-Freisetzung, wenn diese bereits durch Haloperidol vermehrt ist (KEHR 1976).

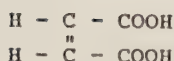
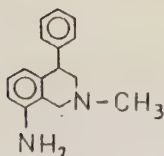
Die Amphetamin-induzierte zentrale Stimulation kann durch Vorbehandlung mit α -Methyl-p-Tyrosin, einem Hemmstoff der Katecholaminsynthese, unterbunden werden (HANSON 1966).

1.5. Klinische Effekte zentraler Stimulantien

Der wichtigste klinische Effekt der zentralen Stimulantien ist die zentrale Erregung, die sich in der Beseitigung von Müdigkeit und der Steigerung der psychischen und physischen Leistungsfähigkeit bemerkbar macht. Die Verwendung von Amphetamin zur medikamentösen Therapie ist heute jedoch stark eingeschränkt, da die Gefahr der Gewohnheitsbildung und Suchterzeugung sehr groß ist.

1.6. Bisher bekannte pharmakologische und biochemische Wirkungsmechanismen des Nomifensin

Nomifensin (HOE 36 984), als Wirkstoff in Alival^R (HOECHST AG) enthalten, ist ein neues Antidepressivum und stammt aus der Stoffklasse der Tetrahydroisochinoline, die als psychotrope Substanzen bisher in der Psychopharmakotherapie noch keine Verwendung gefunden haben.



8-Amino-1,2,3,4-tetrahydro-2-methyl-4-phenyl-isocholin
als Hydrogenmaleinat

In Tierexperimenten wird die durch Reserpin und Tetrabenazin ausgelöste zentraldepressive Wirkung als "Depressionsmodell" benutzt. Beeinflusst ein zentralwirksames Pharmakon die auftretenden Symptome wie Katatonie, Hypothermie, Miosis u.a. antagonistisch, so wird dies als ein Hinweis auf thymoleptische Wirkungsqualitäten angesehen.

In allen durchgeführten Versuchen erwies sich Nomifensin als stärker Reserpin- und Tetrabenazin-antagonistisch als das Vergleichspräparat Imipramin (HOFFMANN et al. 1971; HOFFMANN 1973). Eine Erhöhung der Motilität wurde bei Mäusen bei oraler Verabreichung von mehr als 5 mg/kg Nomifensin beobachtet, ebenso wie das Auftreten von Stereotypien (GERHARDS et al. 1974; COSTALL et al. 1975). Bei Hunden kam es bei einer Dosierung von 20 mg/kg p.o. ebenfalls zu einer Steigerung der motorischen Aktivität, jedoch beobachtete man keine aggressiven Verhaltensweisen. Im EEG wurde nach der Verabreichung von Nomifensin bei Katzen (10 mg/kg i.p.) und Kaninchen (1-5 mg/kg i.v.) mit chronisch implantierten Elektroden ein bis zu 3 Stunden anhaltender Dauerwachzustand nachgewiesen. Am isolierten Ileum des Meerschweinchens waren in vitro sehr hohe Konzentrationen von Nomifensin notwendig, um anticholinerge Effekte hervorzurufen, die jedoch wesentlich schwächer waren als die von den trizyklischen Antidepressiva verursachten Wirkungen. Auch der nach Nomifensin-Gaben beobachtete negativ inotrope Effekt am Meerschweinchenherzen war signifikant schwächer als bei gleichen Dosen von Amitriptylin oder Imipramin. Bei den toxikologischen Untersuchungen fanden sich weder durch Nomifensin induzierte Herzmuskelschäden noch teratogene oder mutagene Effekte (HOFFMANN et al. 1971; HOFFMANN 1973).

Den in den Tierversuchen beobachteten ausgeprägten Reserpin-Tetrabenazin-Antagonismus von Nomifensin führt man auf eine Steigerung der NA-Effekte zurück, die Hypermotilität und Stereotypien werden als Folge potenziierter dopaminerger Mechanismen angesehen (SCHEEL-KRÜGER und RANDRUP 1967; MAJ et al. 1976), denn in biochemischen Untersuchungen erwies sich Nomifensin als starker kompetitiver Hemmstoff der Aufnahme von biogenen Aminen. Dadurch kommt es zu einer Erhöhung der Katecholaminkonzentrationen im synaptischen Spalt. Die Folge ist die Verstärkung der Transmittereffekte (HUNT et al. 1974; SCHACHT und HEPTNER 1974). Die Stärke der hypothalamischen Aufnahmehemmung von Nomifensin entspricht derjenigen von DMI (SCHACHT und HEPTNER 1974). Nomifensin hemmt auch die Aufnahme von DA, besonders gut nachweisbar im stark dopaminerg innervierten Striatum, und unterscheidet sich damit deutlich von den trizyklischen Antidepressiva (HUNT et al. 1974). Der Einfluß von Nomifensin auf die Aufnahme von 5-HT ist wesentlich schwächer als der von Chlorimipramin (SAMANIN et al. 1975). Trotz einiger Vermutungen konnte bisher eine durch die Gabe von Nomifensin induzierte NA- und DA-Freisetzung noch nicht eindeutig nachgewiesen werden (COSTALL et al. 1975; BRAESTRUP und SCHEEL-KRÜGER 1976). Bei in-vivo-Versuchen fand man jedoch einen Anstieg der Hauptmetaboliten von NA (=3-Methoxy-4-hydroxyphenylglycol) und von DA (=Homovanillinsäure) nach Nomifensin-Applikation (BRAESTRUP und SCHEEL-KRÜGER 1976). Eine direkte Rezeptorstimulation wie z.B. nach Apomorphin wurde für Nomifensin ebensowenig bewiesen wie eine Verlangsamung des Katecholaminabbaus durch Hemmung der Monoaminoxidase. Bei der Verabreichung therapeutischer Dosen von Nomifensin konnte man weder zentral noch peripher eine Veränderung der endogenen NA- und DA-Spiegel beobachten (GERHARDS et al. 1974; BRAESTRUP und SCHEEL-KRÜGER 1976). Erst bei sehr hoher Dosierung ließ sich im Rattenhirn eine Nomifensin-induzierte Steigerung des Umsatzes von NA und DA feststellen (GERHARDS et al. 1974). Die zentral stimulierende Wirkungskomponente

von Nomifensin lässt sich im Gegensatz zu Amphetamin nur durch eine kombinierte Vorbehandlung mit α -Methyl-Tyrosin und Reserpin, das zu einer Entleerung der granulären Katecholaminspeicher führt, aufheben (GERHARDS et al. 1974; MAJ et al. 1976). Da Nomifensin eine starke Potenzierung dopaminerger Effekte bewirkt, wird in jüngster Zeit die Möglichkeit geprüft, dieses neue Antidepressivum in Kombination mit L-DOPA in der Therapie des M.PARKINSON einzusetzen (COSTALL et al. 1975; siehe dazu auch BEVAN et al. 1975).

1.7. Ergebnisse der klinischen Prüfung von Nomifensin

Bei umfangreichen klinischen Erprobungen (ANGST et al. 1974; PECKNOLD et al. 1975; WITTENBORN et al. 1976) konnte die therapeutische Wirksamkeit von Nomifensin bestätigt werden. Bei der Behandlung depressiver Erkrankungen unterschiedlicher Genese sowie depressiver Verstimmungszustände mit Begleitsymptomen zeigte sich als einheitliches Ergebnis eine deutliche Besserung der depressiven Grundstimmungen, der depressiven Hemmungen, Angstgefühle und der die Depressionen begleitenden somatischen Symptome. Der hemmungslösende Effekt wurde in einer Steigerung der Merkfähigkeit und Konzentration sowie einer erhöhten Kontaktbereitschaft und gesteigertem Interesse am sozialen Umfeld beobachtet.

Anhaltende pathologische Veränderungen von Laborbefunden oder Herz-Kreislauf-Funktionen konnten bei diesen Versuchsgruppen nicht festgestellt werden. Als Nebenwirkungen traten bei 938 stationär mit Nomifensin behandelten Patienten in 5,5 % verstärkte Schlafstörungen und bei 2,8 % Unruhe und Agitiertheit auf. Absolute Kontraindikationen zur Verabreichung von Nomifensin zur Behandlung von Depressionen unterschiedlicher Genese sind bislang nicht bekannt. Eine Kombinationstherapie mit Neuroleptika, Tranquilizern und Hypnotika kann durchgeführt werden, eine gleichzeitige Verabreichung von Monoaminoxidase-Hemmstoffen soll nicht erfolgen.

1.8. Aufgabe der Arbeit

Aufgabe dieser Arbeit war, die Wirkungen von Nomifensin auf den Katecholaminstoffwechsel in vivo mit derjenigen anderer antidepressiv wirkender und zentral erregender Substanzen zu vergleichen bzw. gegen diese abzugrenzen. Als Vergleichssubstanzen wurden Desmethylinipramin (DMI) und Dextroamphetamin gewählt.

Uns interessierte besonders der Einfluß dieser Pharmaka auf die Gleichgewichtskonzentrationen und die Aufnahme der Katecholamine. Unter unterschiedlichen Versuchsbedingungen wurden im Rattenherzen und -hirn die Wirkungen der Testsubstanzen auf die NA- und DA-Konzentrationen bestimmt. Außerdem wurde über die Bestimmung von L-DOPA nach Hemmung der aromatischen Aminosäure-Decarboxylase mittels NSD 1015 (KEHR 1976) die bisher nicht geklärte Frage einer Änderung der Katecholamin-Synthese nach Nomifensin überprüft.

2. MATERIAL UND METHODEN

(Methoden nach HÄGGENDAHL 1963; NEFF et al. 1971)

2.1. Tiermaterial

Alle Versuche wurden zwischen dem 15. März und dem 31. Dezember 1976 an weiblichen Wistar-Ratten durchgeführt, die 120 - 160 g wogen und immer durch Dekapitation getötet wurden.

2.2. Chemikalien und Arzneimittel

($\pm$)³ H-Noradrenalin-hydrochlorid (1 mCi/ml $\hat{=}$ 10.6 Ci/mmol) stammte aus dem Radiochemical Centre Amersham, England (TRK 171, Batch 28); der Ionenaustauscher Analytical Grade Cation Exchange Resin AG 50 WX 4, 200-400 mesh, wurde von BioRad Lab. Richmond, Calif. geliefert; das neutrale Aluminiumoxid wurde von WOELM (ICN Pharm.) Eschwege bezogen; (-)-Noradrenalin-bitartrat und 4-Hydroxytyramin-HCl (=Dopamin) stammten vom Serva-Entwicklungslabor, Heidelberg.

Verwendete Substanzen:

(+)-Amphetamin-sulfat (MERCK AG, Darmstadt)
Desipramin-HCl (Pertofran^R in Ampullen zu 2 ml mit je 25 mg Wirkstoff, CIBA-GEIGY, Wehr/Baden)
Methylphenidat-HCl (Ritalin^R, CIBA-GEIGY)
Amitriptylin (Laroxyl^R - Ampullen mit je 50 mg Wirkstoff in 2 ml, HOFFMANN-LA ROCHE AG, Grenzach)
Nomifensin-Maleinat (HOE 36 984, HOECHST AG)
Tyramin-HCl puriss. (FLUKA AG, Chem. Fabrik Buchs)
Guanethidin-sulfat (Ismelin^R, EMKA-Chemie)
6-Hydroxydopamin-hydrobromid No.H 5253 (SIGMA Chem.)

Als Hemmstoff der aromatischen Aminosäuredecarboxylase wurde NSD 1015 (3-Hydroxybenzylhydrazin-HCl) von SMITH Nephew Ltd. verwendet.

Zur Durchführung der radioaktiven Messung wurden noch benötigt:

Triton X 100 Emulgator und PPO (2,5-Diphenyloxazole) von KOCH LIGHT Lab. Ltd. Colnbrook Buck, England und Toluol von RIEDEL de HÄEN.

Fluorometrische NA- und DA-Bestimmung

Die NA-(Herz, Großhirn) und DA-(Großhirn)-Bestimmung in den entnommenen Organen erfolgt mittels einer Fraktionierung durch Ionenaustauscher-Säulenchromatographie und einer anschließenden Weiterverarbeitung, die eine spektralfluorometrische Bestimmung des Katecholamingehaltes ermöglicht.

2.3. Vorbereitung der Säulen

500 g Harz und die vierfache Menge (2 l) 2 N Natronlauge werden mit einem Glasrührer 30 min lang gleichmäßig gerührt. Nachdem das Harz sich wieder abgesetzt hat, gießt man die überstehende Flüssigkeit ab und fügt 2 l Aqua bidest hinzu. Man rührt 5 min und schüttet dann wieder den Überstand fort. Dieser Waschvorgang mit Aqua bidest wird solange wiederholt, bis der Überstand klar ist. Dann fügt man nach dem Abgießen 2 l 2 N Salzsäure hinzu, rührt 30 min und wiederholt das Waschen mit Aqua bidest wie nach der Behandlung mit der Natronlauge.

Von dem so vorbereiteten Harz, das kurz vor der Säulenfertigung unter ständigem Rühren im Verhältnis 1:1 mit Aqua bidest suspendiert wurde, gibt man 1,4 ml in eine Glassäule, in deren Spitze kurz zuvor etwas Glaswolle gestopft worden ist; die Höhe des Harzes soll zwischen 2,5 und 3 cm liegen. Folgende Lösungen durchlaufen dann nacheinander die Säulen mit einer Geschwindigkeit von 0,5 bis 1 ml/min:

- 1) 10 ml 2 N NaOH + 1% EDTA
- 2) 10 ml Aqua bidest
- 3) 25 ml 2 N HCl
- 4) 10 ml Aqua bidest

Erst kurz vor der Benutzung gibt man dann noch

- a) 25 ml 1 M Na-Acetat-Puffer pH 6 + 1% EDTA und
- b) 10 ml Aqua bidest

über die Säulen.

2.4. Gewebeaufbereitung

Das den Versuchstieren entnommene Gewebe wird gewogen, in Alufolie verpackt, in flüssigem Stickstoff gefroren und mit 5 ml 0,4 N HClO_4 , der 0,5 mg/ml Na-disulfit zugesetzt wurden, in Kunststoffröhrchen in der Kälte homogenisiert. Nach 10-minütigem Zentrifugieren bei 18.000 U/min in einer Kühlzentrifuge bei 2°C werden 4,7 ml des Überstandes entnommen und mit 0,3 ml 10 M Kaliumacetatlösung versetzt und auf einem Schüttelgerät gemischt. Nachdem die Röhrchen nochmals 10 min bei 18.000 U/min zentrifugiert wurden, werden 4 ml des Überstandes auf die vorbereiteten Säulen gegeben.

2.5. Fraktionierung und Elution der Katecholamine aus den Ionenaustauschersäulen

Wenn diese 4 ml die Säulen passiert haben, werden die folgenden Lösungen zur Abtrennung der Katecholamine aufgegeben:

- 1) 4 ml 0,1 M Na-Acetat-Puffer pH 4,5
 - 2) 10 ml 0,1 M Na-Acetat-Puffer pH 6
 - 3) 2 ml 0,4 N HCl + 0,5 mg/ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$
 - 4) 6 ml 0,4 N HCl + 0,5 mg/ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$
- werden aufgefangen zur Gewinnung von NA

- 5) 4 ml 4 N HCl + 0,5 mg/ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$
werden aufgefangen zur Gewinnung von DA

2.6. Aluminiumoxid-Adsorption und Elution der Katecholamine

Zur nachfolgenden NA- und DA-Bestimmung werden in 15 ml Kunststoffröhrchen ca. 500 mg Aluminiumoxid (Vorbereitung des Al_2O_3 nach ANTON und SAYRE 1962) und ca. 5 ml 0,1 M EDTA-Puffer pH 7 gegeben und 5 min langsam geschüttelt. Nach 10-minütigem Zentrifugieren bei 2.000 U/min wird der Überstand abgesaugt.

A) NA-Bestimmung

In diese mit Al_2O_3 beschickten Kunststoffröhrchen werden die aufgefangenen 6 ml aus der Säule übertragen und der pH mit 2,5 ml 3 M Tris-Lösung auf $\sim 7,5$ eingestellt. Darauf schüttelt man die Röhrchen langsam und gleichmäßig 10 min von Hand, zentrifugiert bei 2.000 U/min 10 min lang und saugt den Überstand ab. Das Al_2O_3 mit adsorbiertem Material wird jetzt 2 x mit je 5 ml Aqua bidest gewaschen, 10 min bei 2.000 U/min zentrifugiert und vom Überstand befreit. Anschließend pipettiert man in jedes der Röhrchen 1,4 ml 0,4 M Ameisensäure, schüttelt 5 min von Hand und zentrifugiert 10 min bei 2.000 U/min. Von dem Überstand entnimmt man je 1 ml und gibt diesen in je ein Reagenzglas. Die verbleibenden 0,4 ml jeder Probe gießt man zusammen, um sie zur Proben-Leerwert-Bestimmung zu benutzen.

2.7. Fluorometrische NA-Bestimmung

Zu den 1 ml im Reagenzglas gibt man je 1 ml 0,1 M EDTA-Lösung pH 7 und fügt nun in genau 2-minütigem Abstand folgende Reagenzien für den Oxidationsvorgang hinzu:

- 1) 0,2 ml alkoholische Jod-Lösung/ Probe
(1,27 g Jod / 100 ml absol. Alkohol)
- 2) 0,2 ml alkalisches Sulfitreagenz
(kurz vorher angesetzt aus: 1 ml 25% Na_2SO_3 + 9 ml 5 N NaOH)
- 3) 0,2 ml 5 N Essigsäure

Die einzelnen Proben werden nach jeder Zugabe mit dem Schüttelgerät geschüttelt.

Zur Ermittlung des Proben-Leerwertes, bei dem durch Vertauschen der Reihenfolge bei der Reagenzienzugabe keine Oxidation stattfindet, verfährt man folgendermaßen:

- a) 0,2 ml alkalisches Sulfitreagenz
- b) 0,2 ml alkoholische Jod-Lösung
- c) 0,2 ml 5 N Essigsäure

Danach werden alle Proben sofort 3 min lang im Wasserbad gekocht, dann läßt man sie abkühlen und mißt das in ihnen enthaltene NA im PERKIN-ELMER-Fluorescence Spectrophotometer 204 bei einer Wellenlänge von 385 nm für die Excitation und 485 nm für die Emission.

2.8. Berechnung der Probenkonzentrationen

Der in der Probe enthaltene NA-Gehalt errechnet sich in $\mu\text{g/g}$ Organgewicht folgendermaßen:

$$\frac{\text{zugesetzte Menge HClO}_4 \text{ (ml)}}{\text{verarbeit. Menge (ml)}} \times \frac{\text{zuges. Standard (}\mu\text{g)}}{\text{IS - TB}} \times \frac{1}{\text{Organ- gew. (g)}} \times (\text{Probenwert} - \text{Leerwert}) = (x) \mu\text{g/g}$$

Der Interne Standard (IS) dient zur Bestimmung des NA-Verlustes während der gesamten Bestimmungsprozedur. Zu Beginn der Aufarbeitung gibt man eine definierte Menge, im Fall des NA 0,5 $\mu\text{g}/50 \mu\text{l}$, in die Proben aus gepooltem Gewebeextrakt und läßt sie die gleiche Bestimmungsprozedur durchlaufen wie die von den behandelten Tieren gewonnenen Extrakte.

Tissue Blank (TB) sind gepoolte Proben, denen kein NA zugesetzt wurde (Proben-Mittelwert).

Der Externe Standard (ES) dient lediglich zur Kontrolle des Oxidationsprozesses und ist notwendig zur Bestimmung der Säulenausbeute: man gibt in unterschiedlichen Konzentrationen 0,10, 0,15 oder 0,25 μg NA zu je 1 ml Ameisensäure und führt auch bei diesen Proben die Oxidation durch.

2.9. Berechnung der Säulenausbeuten

Die Berechnung der Säulenausbeute, die bei der NA-Bestimmung zwischen 68 und 90 % schwankte, erfolgt nach folgender Formel:

$$\text{Ausbeute} = \frac{5}{4} \times \frac{\text{IS-TB}}{\text{ES-RB}} \times 100$$

RB = Reagenzien-Leerwert

2.10. Radioaktivitätsmessungen

Die Bestimmung von radioaktiv markiertem NA ist bis zur Zugabe der Ameisensäure mit dem vorher beschriebenen Vorgang identisch: Nun aber werden die Röhrchen mit 3,5 ml 0,4 M Ameisensäure beschickt, 5 min langsam mit der Hand geschüttelt und dann bei 2.000 U/min 10 min lang zentrifugiert. 1 ml der Überstandslösung wird wieder in ein Reagenzglas pipettiert und unterliegt der gleichen Bestimmungsmethode wie auch das unmarkierte NA. 2 ml des Überstandes gibt man in ein Szintillationsgefäß, das man noch mit 15 ml Triton- Szintillationslösung, hergestellt aus 1 l Triton, 2 l Toluol und 23 g PPO, füllt. Nachdem man die Gläschen gut geschüttelt hat, werden sie im INTERTECHNIQUE-Counter Typ SL 30-200 gezählt. Zur Errechnung der dpm/g verwendet man folgende Formel:

$$\text{dpm/g} = \frac{5}{4,7} \times \frac{5}{4} \times \frac{3,5}{2} \times \frac{100}{\text{Rec}} \times \frac{100}{\text{Eff}} \times 2 \times \frac{1}{\text{Gew.}} \times (\text{cpm} - \text{bl})$$

Rec = Säulenausbeute

Eff = 25% (Effektivität des Szintillationszählers für ³H)

cpm - bl = counts per minute minus background

Gew = Organgewicht

B) DA-Bestimmung

Von den aus der Säule aufgefangenen 4 ml werden 3 ml in die mit Al₂O₃ vorbereiteten Kunststoffröhrchen gegeben, und man fügt 10,5 ml 3 M Tris-Lösung hinzu (pH dann 7,5 - 8). Nach 10-minütigem Schütteln wird bei 2.000 U/min 10 min lang zentrifugiert und der Überstand abgesaugt. Dann schüttelt man 2 x mit je 5 ml Aqua bidest pro Probe, zentrifugiert je 10 min bei 2.000 U/min und saugt den Überstand ab. Anschließend gibt man 1,5 ml 0,4 M Ameisensäure in jedes Röhrchen, schüttelt 5 min und zentrifugiert die Röhrchen bei 2.000 U/min. 1 ml des Überstandes aus den Röhrchen werden jeweils

in ein Reagenzglas überführt, von dem restlichen zusammenge-
gossenen Überstand wird 1 ml zur Bestimmung des Proben-Leer-
wertes verwendet. Zu den 1 ml im Reagenzglas gibt man nun zur
Vorbereitung der Oxidation 1 ml des Puffers, der kurz zuvor
aus 1 ml 2 N NaOH + 1% EDTA und 9 ml 0,5 M Phosphatpuffer pH
7,4 hergestellt wurde, und führt dann die Oxidation mit
folgenden Reagenzien und Mengen pro Probe durch, wobei nach
jeder Zugabe die Probe auf dem Schüttelgerät gemischt wird:

- 1) 0,05 ml alkoholische Jod-Lösung nach 3 min:
- 2) 0,25 ml alkalisches Reagenz aus:
 - a) 1 ml 10% EDTA in 3 N NaOH
 - b) 8 ml 3 N NaOH
 - c) 1 ml Na-Sulfit-Lösung nach 5 min:
- 3) 0,15 ml Eisessig

2.11. Fluorometrische DA-Bestimmung

Die Reaktionsgemische werden anschließend 45 min lang in
einem kochenden Wasserbad erhitzt, und anschließend liest
man die Werte bei 320/370 nm mit dem oben beschriebenen
Fluorometer ab.

Zur Bestimmung des Leerwertes vertauscht man wie bei der NA-
Bestimmung die Reihenfolge der zuzugebenden Substanzen in
folgender Weise:

- a) 0,25 ml alkalisches Sulfitreagenz
- b) 0,05 ml alkoholische Jod-Lösung
- c) 0,15 ml Eisessig

Die Errechnung des DA-Gehaltes des untersuchten Organs er-
folgt mit Hilfe der gleichen Formel wie bei der NA-Bestimmung,
nur ist ES diesmal 0,1, 0,25 oder 0,5 μ g DA und IS 0,5 μ g DA,
hergestellt aus frischen Verdünnungen der Stammlösung
1 mg DA/ml.

Die Säulenausbeute, errechnet nach der Formel

$$\text{Ausbeute} = \frac{5}{4} \times \frac{4}{3} \times \frac{\text{IS} - \text{TB}}{\text{ES} - \text{RB}} \times 100$$

betrug bei der DA-Bestimmung nach der eben beschriebenen Methode zwischen 50 und 70 %.

2.12. L-DOPA-Säulenfraktionierung und Bestimmung

Die mit dem zu untersuchenden Pharmakon behandelten Versuchstiere erhalten 30 min vor ihrem Tod durch Dekapitation 100 mg/kg des Aminosäuredecarboxylasehemmstoffes NSD 1015 (3-Hydroxybenzylhydrazin-HCl) i.p. verabreicht. Das in den 30 min anflutende L-DOPA wird dann mit Hilfe der im folgenden beschriebenen Methode bestimmt:

Bei der L-DOPA-Abtrennung werden 2 verschieden präparierte Säulengruppen verwendet: die erste Gruppe wird ebenso wie die Säulen zur NA- und DA-Bestimmung vorbereitet, während man über die zweite Gruppe - sie dient zur Abtrennung von L-DOPA - anstelle der 25 ml 2 N HCl lediglich 10 ml 2 N HCl laufen läßt. Ansonsten ist auch bei diesem Säulentyp die Vorbereitung identisch mit der zuvor beschriebenen Methode. Kurz vor der Benutzung dieser Säulen läßt man noch

- a) 10 ml 0,1 M Phosphatpuffer pH 6,4 und
- b) 10 ml Aqua bidest hindurchlaufen.

Nachdem man die Homogenisierung des Gewebes in der gleichen Weise wie bereits beschrieben durchgeführt hat, gibt man wiederum 4 ml des Überstandes auf die erste Säulengruppe, unter die Reagenzgläser zum Auffangen des Eluats gestellt wurden. Wenn diese 4 ml die Säulen durchlaufen haben, gibt man noch 4 ml 0,1 M Na-Acetat-Puffer pH 4,5 auf die Säulen

und fängt das Eluat ebenfalls auf. Diese gesammelte 8 ml-Fraktion wird mit 8 N HCl bis auf einen pH-Wert von 1,2 bis 1,8 titriert. Diese titrierte Fraktion gibt man nun auf die zweite Säulengruppe, verwirft aber ebenso wie bei dem anschließenden Waschen 10 ml Aqua bidest das Eluat. Nachdem man die Reagenzgläser zum Sammeln untergestellt hat, gibt man folgende Lösungen zum Abtrennen der L-DOPA-Fraktion auf die Säulen:

- 1) 3 ml 0,4 N HCl
- 2) 3 ml 2 N HCl

Das Eluat wird aufgefangen und zu dem bereits gewaschenen Al_2O_3 gegeben, außerdem fügt man noch 7,5 ml 3 M Tris-Lösung hinzu, so daß ein pH von 8,5 erreicht wird. Die weitere L-DOPA-Aufarbeitung geschieht nun in gleicher Weise wie für DA, auch bei der fluorometrischen Bestimmung werden die gleichen Wellenlängen 320/370 nm wie bei DA verwandt.

Zur Errechnung der Säulenausbeute benutzt man die auch für NA gültige Formel:

$$\text{Ausbeute} = \frac{5}{4} \times \frac{\text{IS} - \text{TB}}{\text{ES} - \text{RB}} \times 100$$

Die Ausbeute bei der L-DOPA-Bestimmung lag zwischen 55 und 75 %.

2.13. Bestimmung der ^3H -NA-Aufnahme ins Rattenherz

Die Versuchstiere erhalten unterschiedlich hohe Dosen der zu untersuchenden Substanzen i.p. verabreicht. 30 min später appliziert man ihnen 10 $\mu\text{Ci/kg}$ ^3H -NA i.v. Wiederum nach 30 min werden sie durch Dekapitation getötet, man entnimmt die Herzen und bestimmt den Gehalt an radioaktiv markiertem NA wie bereits beschrieben. Den Wert für die spezifische

Aktivität (S.A.) erhält man durch Division der ausgedruckten cpm/g Organgewicht durch die fluorometrisch bestimmte NA-Konzentration ($\mu\text{g/g}$ Organgewicht). Die für die S.A. erhaltenen Werte drückt man in % der Kontrollaktivität aus, die von Tieren stammt, die nur $10 \mu\text{Ci/kg } ^3\text{H-NA}$ erhalten haben. Diese Prozentwerte trägt man dosisabhängig semilogarithmisch auf und ermittelt graphisch die ED_{50} , d.h. die Substanzdosis, bei der 50 % der Aktivitätsmenge der nicht vorbehandelten Tiere gefunden werden.

2.14. Statistische Methoden

Streuungsangaben in Verbindung mit Mittelwerten stellen die Standardabweichung des Mittelwertes ($s_{\bar{x}}$ bzw. S.E.M.) dar. Als Signifikanzniveau wird $p < 0,05$ angenommen.

Die statistische Auswertung erfolgt mit Hilfe der Varianzanalyse nach KRUSKAL und WALLIS (s. LIENERT, 1973).

Die Anzahl der Beobachtungen wird mit n bezeichnet.

3. ERGEBNISSE

3.1. NA-Konzentrationen im Rattenherzen

Im Abstand von jeweils 8 Stunden erhielten die Versuchstiere eine bis maximal 4 Injektionen von je 5 mg/kg Amphetamin oder 10 mg/kg DMI bzw. 10 mg/kg Nomifensin i.p. verabreicht. Eine Stunde nach der letzten Dosis wurden sie durch Dekapitation getötet und ihre Herzen zur NA-Bestimmung nach der oben beschriebenen Methode entnommen. Eine Gruppe von 4 Kontrolltieren je Injektionsschema erhielt zu den gleichen Zeitpunkten 0,8 ml 0,9 % NaCl-Lösung i.p.

Nach der ersten Injektion trat nach keinem der drei Pharmaka eine Veränderung des NA-Spiegels auf (Tab.1, Abb. 1). Nach der zweiten Amphetamin-Gabe war eine signifikante Senkung der NA-Konzentration auf 36 % des Kontrollwertes feststellbar. Diese Veränderung war auch noch nach der dritten (29 %) und vierten (31 %) Amphetamin-Injektion sichtbar.

Nomifensin und DMI riefen dagegen nach keiner der maximal 4 Applikationen eine signifikante Veränderung der NA-Konzentration im Rattenherzen hervor.

3.2. Hemmung der Tyramin-, Guanethidin- bzw. 6-Hydroxydopamin-induzierten Entleerung am Rattenherzen

Den Tieren wurden verschieden hohe Dosen von Amphetamin (10; 3; 1 mg/kg), DMI (30; 10; 3; 1 mg/kg) und Nomifensin (30; 10; 3; 1 mg/kg) i.p. verabreicht. Nach 60 min wurden folgende Substanzen injiziert:

- a) Tyramin 40 mg/kg i.m. (Dekapitation nach weiteren 60 min),
- b) Guanethidin 15 mg/kg i.p. (Dekapitation nach 16 Stunden)
oder
- c) 6-Hydroxydopamin 5 mg/kg i.v. (Dekapitation nach 16 Stunden)

Tab. 1

Der Einfluß von Amphetamin, Nomifensin und DMI auf die NA-Konzentration im Rattenherzen
 I.p. Injektion der Substanzen im Abstand von jeweils 8 Stunden, Bestimmung der NA-Konzentration 1 Stunde nach der jeweils letzten Applikation

Angegeben sind die Mittelwerte $\pm s_{\bar{x}}$ der NA-Konzentrationen aus jeweils 6 Versuchen.
 $\% \text{ Ko}$ = Mittelwert der NA-Konzentrationen als Prozentsatz der mit physiologischer Kochsalzlösung behandelten Kontrollen

100 $\% \text{ Ko} \approx 0,939 \pm 0,027 \mu\text{g/g NA}$, $n = 16$

Substanz	nach 1 Injekt.	$\% \text{ Ko}$ nach 2 Injekt.	$\% \text{ Ko}$ nach 3 Injekt.	$\% \text{ Ko}$ nach 4 Injekt.	$\% \text{ Ko}$
Amphetamin (5 mg/kg)	0,835 $\pm 0,157$	90 $\pm 0,114$	36 $\pm 0,067$	29 $\pm 0,060$	31 $\pm 0,060$
Nomifensin (10 mg/kg)	0,926 $\pm 0,241$	99 $\pm 0,280$	87 $\pm 0,180$	83 $\pm 0,210$	99 $\pm 0,210$
DM I (10 mg/kg)	0,863 $\pm 0,177$	92 $\pm 0,280$	71 $\pm 0,137$	100 $\pm 0,144$	95 $\pm 0,144$

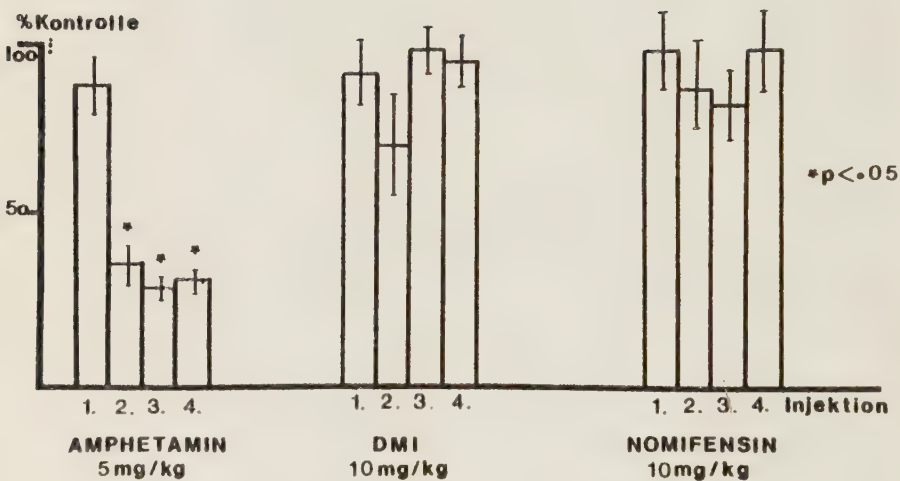


Abb. 1:

Graphische Darstellung der Werte aus Tab. 1 mit Angabe der Standardabweichungen

Signifikanzniveau $p < 0,05$ errechnet nach der Varianzanalyse nach KRUSKAL und WALLIS (s. LIENERT, 1973).

- a) Tyramin allein reduzierte den NA-Spiegel des Herzens auf ca. 40 % der NaCl-Kontrolle. Nach Vorbehandlung mit Amphetamin in verschiedenen Dosierungen trat keine deutliche Änderung des Effektes von Tyramin auf die NA-Konzentration der Herzen ein. Die ermittelten Werte waren identisch mit dem der Tyramin-Kontrolle (Abb. 2).
- b) Die Gabe von Guanethidin senkte die NA-Konzentration auf etwa 10 % des Kontrollwertes, und erst eine Dosis von 10 mg/kg DMI bzw. 30 mg/kg Nomifensin antagonisierte diese starke Speicherentleerung und hob den NA-Spiegel wieder auf über 60 % der Kontrolle an. Amphetamin zeigte bereits ab 1 mg/kg eine Guanethidin-antagonistische Wirkung, die dosisabhängig zunahm.
- c) Auch 6-Hydroxydopamin rief eine starke NA-Verarmung auf ca. 20 % der NaCl-Kontrollen hervor. Diese Wirkung wurde durch DMI mit steigender Dosis fast völlig aufgehoben, während Amphetamin ein Maximum der inhibitorischen Wirkung bereits bei 1 mg/kg zeigte und mit steigender Dosierung wieder nahezu völlig seinen protektiven Effekt verlor. Die antagonistische Wirkung von Nomifensin gegen die durch 6-Hydroxydopamin verursachte NA-Entleerung war bereits ab 0,3 mg/kg nachweisbar, zeigte jedoch keine klare Dosisabhängigkeit.

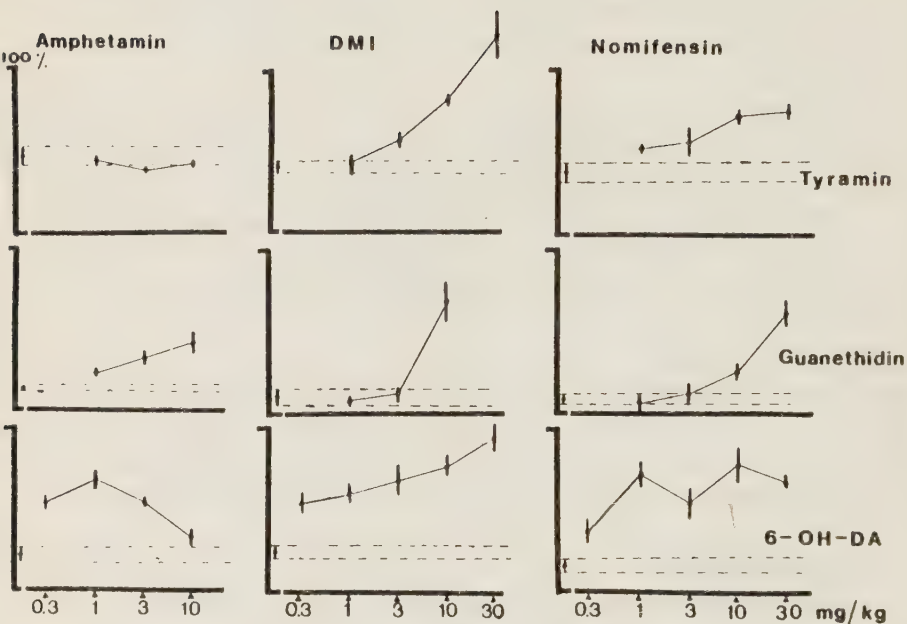


Abb. 2:

Der Einfluß von Amphetamin, DMI und Nomifensin auf die NA-Entleerung nach Tyramin, Guanethidin und 6-Hydroxydopamin

Injektionen verschieden hoher Dosen von Amphetamin, DMI und Nomifensin, i.p. verabreicht 1 Stunde vor Applikation von Tyramin 40 mg/kg i.m., Guanethidin 15 mg/kg i.p. bzw. 6-Hydroxydopamin 5 mg/kg i.v., Dekapitation 60 min nach Tyramin bzw. 16 Stunden nach Guanethidin und 6-Hydroxydopamin

Ordinaten: Mittelwerte der NA-Konzentrationen als Prozentsatz der mit physiolog. Kochsalzlösung behandelten Kontrollen [% Ko], n = 4/Dosis. Abszissen: Dosen (mg/kg) in logarithm. Auftragung.

3.3. Hemmung der ^3H -NA-Aufnahme im Rattenherzen

Die Versuchstiere erhielten unterschiedlich hohe Dosen der zu testenden Substanzen i.p. verabreicht: Amphetamin (0,3; 1; 3; 10 mg/kg), DMI (0,1; 0,3; 1; 3; 10 mg/kg), Nomifensin (0,1; 0,3; 1; 3 mg/kg), Amitriptylin (1; 3; 10; 30 mg/kg), Methylphenidat (0,3; 1; 3; 10 mg/kg). 30 min später applizierte man ihnen 10 $\mu\text{Ci/kg}$ ^3H -NA i.v. Nach weiteren 30 min wurden sie durch Dekapitation getötet, ihre Herzen entnommen und der Gehalt an radioaktiv markiertem NA nach der beschriebenen Methode bestimmt. Die 12 Tiere der Kontrollgruppe erhielten je 0,7 ml 0,9 % NaCl-Lösung i.p. und nach 30 min ebenfalls 10 $\mu\text{Ci/kg}$ ^3H -NA i.v.

Bei allen geprüften Substanzen wurde eine dosisabhängige Hemmung der ^3H -NA-Aufnahme gefunden. Eine Aussage über die quantitative Größe der Aufnahmehemmung durch verschiedene Substanzen war nach Ermittlung der ED_{50} möglich. Dies erfolgte graphisch durch Füllen des Lots auf die Abszisse. Die ED_{50} ist die Konzentration des Pharmakons, bei der 50 % der Radioaktivität gefunden werden, die die nicht mit Testsubstanz vorbehandelten Tiere aufweisen.

Als stärkster Hemmstoff der ^3H -NA-Aufnahme erwies sich DMI, das bereits in einer Dosierung von 0,50 mg/kg die ^3H -NA-Aufnahme um 50 % gegenüber der Kontrollgruppe hemmte. Nomifensin war mit einer ED_{50} von 0,70 mg/kg der zweitstärkste Hemmstoff, dann folgten Amphetamin mit einer ED_{50} von 1,35 mg/kg, Methylphenidat mit einer ED_{50} von 3,0 mg/kg und Amitriptylin mit 8,5 mg/kg zur 50 % Hemmung der ^3H -NA-Aufnahme. (Abb. 3)

Die Streuung der Einzelwerte in Abb. 3 um die angegebenen Mittelwerte betrug zwischen 1,1% und 9 4%.

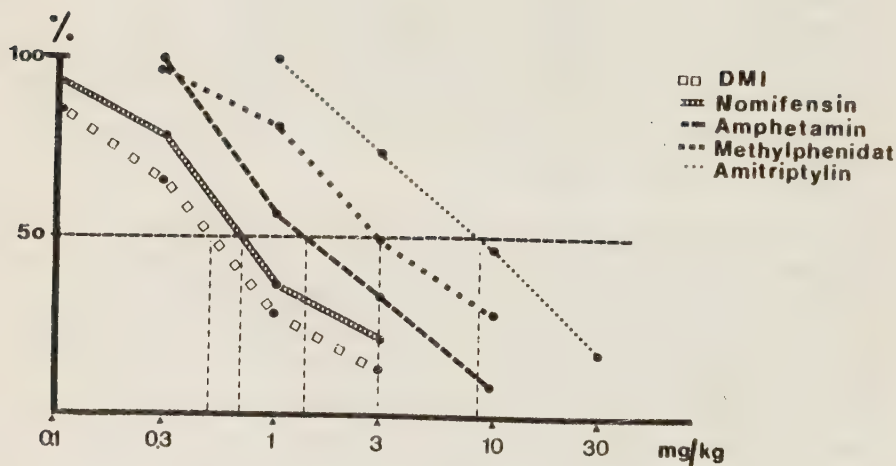


Abb. 3: Hemmung der ^3H -NA-Aufnahme im Rattenherzen

I.p. Injektion der Substanzen in unterschiedlich hoher Dosierung, nach 30 min $10 \mu\text{Ci/kg}$ ^3H -NA i.v., nach weiteren 30 min Bestimmung der Konzentration von radioaktivem NA. Angegeben sind die Mittelwerte aus jeweils 4 Versuchen in % Ko (Ordinate), [% Ko] = Mittelwert der ^3H -NA-Konzentration als Prozentsatz der mit 0,9 % NaCl-Lösung und $10 \mu\text{Ci/kg}$ ^3H -NA behandelten Kontrollen, $n = 12$. Graphische Ermittlung der ED_{50} durch Fällen des Lots auf die Abszisse (logarithmische Auftragung der Dosen in mg/kg).

3.4. NA- und DA-Konzentrationen im Rattenhirn, akute Behandlung

Die Versuchstiere erhielten im Abstand von jeweils 8 Stunden eine bis maximal 4 Injektionen von je 5 mg/kg Amphetamin oder 10 mg/kg DMI bzw. 10 mg/kg Nomifensin i.p. verabreicht. Zu den gleichen Zeitpunkten erhielten die Kontrollgruppen 0,8 ml 0,9 % NaCl-Lösung / Injektion. Eine Stunde nach der jeweils letzten Applikation wurden die Tiere durch Dekapitation getötet und die Hirne zur Bestimmung der NA- und DA-Spiegel nach den bekannten Methoden entnommen.

Keines der getesteten Pharmaka bewirkte nach der ersten und zweiten Injektion eine Veränderung des Hirn-NA-Spiegels. Nach der 3. Amphetamin-Gabe sank die NA-Konzentration im Hirn signifikant auf 68 % des Kontrollwertes, nach der 4. Injektion auf 38 % ab (Tab. 2, Abb. 4). Nomifensin und DMI veränderten auch nach diesen beiden Applikationen nicht die NA-Konzentration. Die ein- oder mehrmalige Applikation der drei Pharmaka bewirkte bei akuter Behandlung keine signifikante Veränderung des Hirn-DA-Spiegels. (Tab. 3, Abb. 4).

3.5. NA- und DA-Konzentrationen im Rattenhirn, subakute Behandlung

Zweimal täglich um 8 und um 16 Uhr wurden den Versuchstieren 5 Tage lang jeweils 5 mg/kg Amphetamin bzw. 20 mg/kg DMI oder 20 mg/kg Nomifensin i.p. appliziert. Zu den gleichen Zeitpunkten erhielt eine aus 6 Tieren bestehende Kontrollgruppe jeweils 0,8 ml 0,9 % NaCl-Lösung ebenfalls i.p. Nach 5 Tagen, 1 Stunde nach der letzten Injektion, wurden die Tiere durch

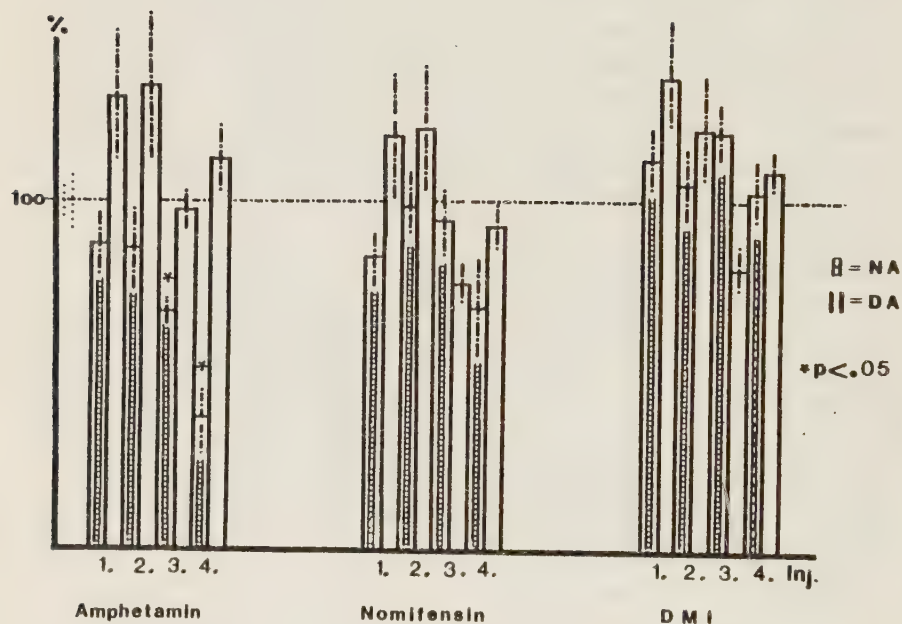


Abb. 4:

Graphische Darstellung der Werte aus Tab. 2 und 3 mit Angabe der Standardabweichungen der Mittelwerte

Mittelwerte der NA- und DA-Konzentrationen als Prozentsatz der mit physiolog. Kochsalzlösung behandelten Kontrollen [% Ko]

Signifikanzniveau $p < 0,05$ errechnet nach der Varianzanalyse nach KRUSKAL und WALLIS (s. LIENERT, 1973).

Tab. 2 Der Einfluß von Amphetamin, Nomifensin und DMI auf die NA-Konzentration im Rattenhirn
I.p. Injektion der Substanzen im Abstand von 8 Stunden, Bestimmung der NA-Konzentration
1 Stunde nach der jeweils letzten Applikation

Angegeben sind die Mittelwerte $\pm$ sg der NA-Konzentrationen aus jeweils n Versuchen.
% Ko = Mittelwerte der NA-Konzentrationen als Prozentsatz der mit physiologischer
Kochsalzlösung behandelten Kontrollen

100 % Ko = $0,323 \pm 0,052$ μ g/g NA, n = 28

Substanz	nach 1 Injekt.	% Ko nach 2 Injekt.	% Ko nach 3 Injekt,	% Ko nach 4 Injekt.	% Ko
Amphetamin (5 mg/kg)	n = 16 0,287 $\pm 0,055$	n = 15 89 0,280 $\pm 0,074$	n = 12 87 0,220 $\pm 0,021$	n = 12 68 0,123 $\pm 0,063$	n = 12 38
Nomifensin (10 mg/kg)	n = 14 0,273 $\pm 0,047$	n = 16 85 0,319 $\pm 0,054$	n = 12 99 0,307 $\pm 0,055$	n = 12 95 0,227 $\pm 0,083$	n = 12 70
D M I (10 mg/kg)	n = 15 0,363 $\pm 0,060$	n = 16 112 0,339 $\pm 0,057$	n = 12 105 0,388 $\pm 0,042$	n = 12 120 0,333 $\pm 0,054$	n = 12 103

Tab. 3: Der Einfluß von Amphetamin, Nomifensin und DMI auf die DA-Konzentration im Rattenhirn
I.p. Injektion der Substanzen im Abstand von 8 Stunden, Bestimmung der DA-Konzentration
1 Stunde nach der jeweils letzten Applikation

Angegeben sind die Mittelwerte $\pm$ s $\bar{x}$ der DA-Konzentration aus jeweils n Versuchen.
% Ko = Mittelwerte der DA-Konzentrationen als Prozentsatz der mit physiologischer
Kochsalzlösung behandelten Kontrollen

100 % Ko = 0,831 $\pm$ 0,099 μ g/g DA , n = 24

Substanz	n.1 Injekt.	% Ko	n	n.2 Injekt.	% Ko	n	n.3 Injekt.	% Ko	n	n.4 Injekt.	% Ko	n
Amphetamin (5 mg/kg) $\pm$ 0,302	1,085	131	11	1,100 $\pm$ 0,352	133	11	0,812 $\pm$ 0,092	98	12	0,934 $\pm$ 0,157	112	12
Nomifensin (10 mg/kg) $\pm$ 0,293	0,991	119	12	1,006 $\pm$ 0,301	121	12	0,642 $\pm$ 0,096	77	12	0,775 $\pm$ 0,114	93	12
D M I (10 mg/kg) $\pm$ 0,253	1,129	136	12	1,004 $\pm$ 0,255	121	12	0,673 $\pm$ 0,123	81	12	0,906 $\pm$ 0,104	109	11

1
3
1

Dekapitation getötet und die Hirn- NA- und DA-Konzentrationen nach den beschriebenen Methoden bestimmt.

Durch wiederholte Nomifensin- und DMI-Gaben trat keine Änderung der NA- und DA-Spiegel im Rattenhirn ein (Abb. 5). Die subakute Behandlung mit Amphetamin rief eine signifikante Senkung der NA-Konzentration auf 67 % des Kontrollwertes hervor, während der DA-Spiegel durch Amphetamin ebenfalls unbeeinflusst blieb (Abb. 5).

3.6. L-DOPA-Anschoppung nach NSD 1015

a) Striatum und frontaler Cortex

Man injizierte den Versuchstieren s.c. 2 mg/kg Amphetamin bzw. 10 mg/kg Nomifensin oder 10 mg/kg DMI. Nach 15 min erhielten sie i.p. 100 mg/kg NSD 1015 (=3-Hydroxybenzylhydrazin), einen Hemmstoff der aromatischen Aminosäuredecarboxylase. Die anschließende L-DOPA-Anflutung soll innerhalb der ersten 30 min einen linearen Verlauf haben (CARLSSON et al. 1972). 30 min nach Applikation von NSD 1015 wurden die Tiere dekapitiert und im Striatum und frontalen Cortex die L-DOPA-Konzentrationen bestimmt.

Die Kontrollgruppen erhielten anstelle der Substanzen 0,8 ml 0,9 % NaCl-Lösung und ebenfalls 100 mg/kg NSD 1015.

Im Striatum bewirkte lediglich Amphetamin eine signifikante Änderung der L-DOPA-Konzentration, einen Anstieg um das 2 1/2 fache des Kontrollwertes (Tab. 4a, Abb. 6). Im frontalen Cortex rief keine der Substanzen eine Veränderung des L-DOPA-Spiegels hervor (Tab. 4b, Abb. 6).

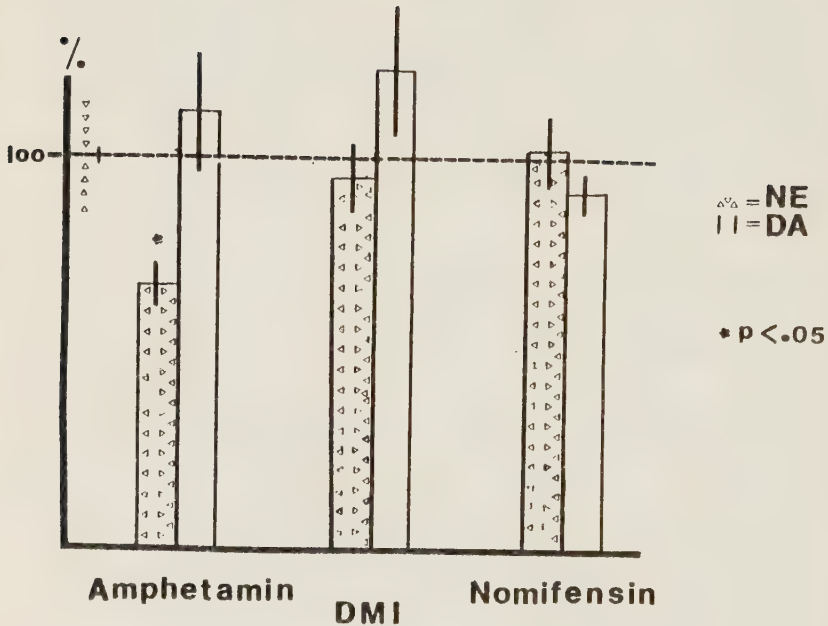


Abb. 5:

Einfluß von Amphetamin (5 mg/kg), DMI (20 mg/kg) und Nomifensin (20 mg/kg) auf die NA- und DA-Konzentration im Rattenhirn bei subakuter Applikation (5 Tage)

2 x tgl. um 8 und 16 Uhr i.p. Applikation der Substanzen, Bestimmung der NA- und DA-Konzentration 1 Std. nach der letzten Injektion

Angegeben sind die Mittelwerte $\pm s_{\bar{x}}$ der NA- und DA-Konzentrationen aus jeweils 6 Versuchen

Ordinate: % Ko = Mittelwerte der NA- bzw. DA-Konzentrationen als Prozentsatz der mit physiologischer Kochsalzlösung behandelten Kontrollen, n = 6

Signifikanzniveau $p < 0,05$ errechnet nach der Varianzanalyse nach KRUSKAL und WALLIS (s. LIENER, 1972)

Tab. 4

Einfluß von Amphetamin, Nomifensin und DMI auf die L-DOPA-Konzentration im Striatum und frontalen Cortex des Rattenhirns nach Blockade der aromatischen Aminosäuredecarboxylase durch NSD 1015

s.c. Applikation der Pharmaka 15 min vor i.p. - Injektion von 100 mg/kg NSD 1015, Dekapitation nach 30 min und Bestimmung der L-DOPA-Konzentration

Angegeben sind die Mittelwerte $\pm s_{\bar{x}}$ der L-DOPA-Konzentrationen in $\mu\text{g/g}$ aus jeweils 4 Versuchen; % NSD-Ko = Mittelwert $\pm$ Standardabweichung als %-Angabe der L-DOPA-Konzentration der mit physiologischer Kochsalzlösung und 15 min später mit 100 mg/kg NSD 1015 i.p. behandelten Tiere

a) Striatum

	$\mu\text{g/g}$ L-DOPA	$\pm$	$s_{\bar{x}}$	% NSD-Ko	n
NSD 1015 (100 mg/kg)	0,805		0,06		12
Amphetamin (2 mg/kg)	2,081		0,41	260	12
Nomifensin (10 mg/kg)	1,059		0,15	132	12
D M I (10 mg/kg)	1,110		0,11	138	12

b) frontaler Cortex

NSD 1015 (100 mg/kg)	0,217		0,03		12
Amphetamin (2 mg/kg)	0,259		0,04	119	12
Nomifensin (10 mg/kg)	0,220		0,05	101	12
D M I (10 mg/kg)	0,201		0,03	96	12

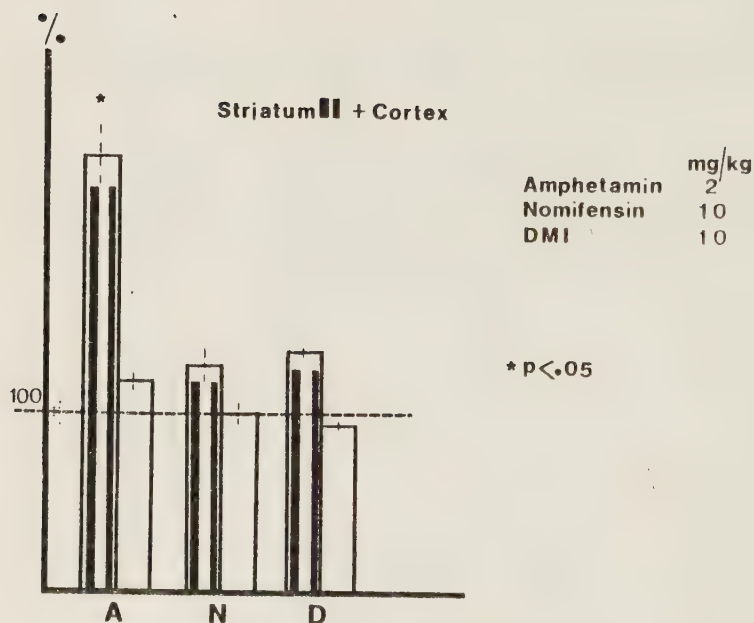


Abb. 6:

Einfluß von Amphetamin, Nomifensin und DMI auf die L-DOPA-Konzentration im Striatum und frontalen Cortex des Rattenhirns nach Blockade der aromatischen Aminosäuredecarboxylase durch NSD 1015

Graphische Darstellung der Werte aus Tab. 4 mit Angabe der Standardabweichungen der Mittelwerte

Signifikanzniveau $p < 0,05$ errechnet nach der Varianzanalyse nach KRUSKAL und WALLIS (s. LIENERT, 1973).

Bei den ersten Versuchen dieser Reihe war auch eine Entnahme des parietalen Cortex sowie des Hypothalamus erfolgt. Da die Bestimmung der L-DOPA-Konzentrationen in diesen Hirnarealen ebenso wie im frontalen Cortex keine von den Kontrollwerten abweichenden Ergebnisse zeigte, wurde im weiteren Verlauf der Untersuchungen auf die Ermittlung der L-DOPA-Spiegel in diesen Hirngebieten verzichtet.

b) im Striatum

Zu verschiedenen Zeitpunkten (15 min bis 48 Stunden) vor der NSD 1015-Applikation (100 mg/kg i.p.) erhielten die Versuchstiere 5 mg/kg Amphetamin bzw. 20 mg/kg Nomifensin i.p. 30 min nach der NSD-Injektion wurden sie dekapitiert und die L-DOPA-Konzentrationen im Striatum bestimmt.

Nach 30 min sah man eine Amphetamin-induzierte signifikante Erhöhung des L-DOPA-Spiegels auf 144 % des Kontrollwertes (Tab. 5, Abb. 7). Mit 58 % des Kontrollwertes erreichte die L-DOPA-Konzentration bei Amphetamin-Injektion 4 Stunden vor NSD ein signifikantes Minimum. Im weiteren Versuchszeitraum ergab sich keine Abweichung von den Kontrollwerten.

Die Nomifensin-Applikation 2 Stunden vor NSD-Gabe bewirkte eine Senkung des L-DOPA-Spiegels auf 64 % der Kontrolle (Tab. 6, Abb. 7). Alle anderen Ergebnisse schwankten um den Kontrollwert.

3.7. Verhalten der Tiere, Verträglichkeit der Dosierungen

Die Versuchstiere tolerierten alle getesteten Dosierungen von DMI gut. Bei Dosierungen höher als 10 mg/kg Nomifensin stellten sich Stereotypen ein. 30 mg/kg Amphetamin erwiesen sich als letale Dosis, so daß die Versuche nur bis zu einer Maximaldosierung von 10 mg/kg Amphetamin durchgeführt wurden.

Tab. 5

Einfluß von Amphetamin auf die L-DOPA-Konzentration im Striatum des Rattenhirns nach Blockade der aromatischen Aminosäure-decarboxylase durch NSD 1015

Amphetamin 5 mg/kg i.p., nach unterschiedlichen Zeiten:

100 mg/kg NSD 1015 i.p., Dekapitation nach 30 min

Angegeben sind die Mittelwerte $\pm s_{\bar{x}}$ der L-DOPA-Konzentrationen aus jeweils n Versuchen

% NSD-Ko = Mittelwert der L-DOPA-Konzentrationen als Prozentsatz der mit 0,9 % Kochsalzlösung und NSD behandelten Kontrollen

Zeit		$\mu\text{g/g}$ L-DOPA	$\pm$	$s_{\bar{x}}$	% NSD-Ko	n
15'	Ko	1,259		0,578		4
		1,793		1,110	143	8
30'	Ko	1,552		0,447		4
		2,235		0,463	144	8
1 ^h	Ko	1,390		0,475		4
		0,950		0,463	68	12
2 ^h	Ko	1,552		0,447		4
		1,359		0,473	88	8
4 ^h	Ko	1,329		0,485		4
		0,768		0,285	58	16
8 ^h	Ko	1,234		0,547		4
		0,931		0,365	75	7
16 ^h	Ko	1,309		0,563		4
		1,113		0,523	85	15
24 ^h	Ko	0,681		0,322		4
		0,767		0,200	113	8
48 ^h	Ko	0,681		0,322		4
		0,575		0,137	84	8

Tab. 6

Einfluß von Nomifensin auf die L-DOPA-Konzentration im Striatum des Rattenhirns nach Blockade der aromatischen Aminosäure-decarboxylase durch NSD 1015

Nomifensin 20 mg/kg i.p., nach unterschiedlichen Zeiten
100 mg/kg NSD 1015 i.p., Dekapitation nach 30 min

Angegeben sind die Mittelwerte $\pm s_{\bar{x}}$ der L-DOPA-Konzentrationen aus jeweils n Versuchen

% NSD-Ko = Mittelwert der L-DOPA-Konzentrationen als Prozentsatz der mit 0,9 % Kochsalzlösung und NSD behandelten Kontrollen

Zeit		$\mu\text{g/g}$ L-DOPA	$\pm$	$s_{\bar{x}}$	% NSD-Ko	n
15'	Ko	0,698	0,030			4
		0,542	0,170		78	4
30'	Ko	1,368	0,334			4
		1,362	0,338		100	8
1 ^h	Ko	1,122	0,501			4
		0,930	0,455		83	8
2 ^h	Ko	1,368	0,334			4
		0,872	0,309		64	7
4 ^h	Ko	1,264	0,699			4
		0,858	0,458		68	10
8 ^h	Ko	1,404	0,683			4
		1,004	0,209		72	7
16 ^h	Ko	1,404	0,683			4
		1,375	0,630		98	8
24 ^h	Ko	0,681	0,322			4
		0,950	0,464		140	8
48 ^h	Ko	0,681	0,322			4
		0,979	0,457		144	8

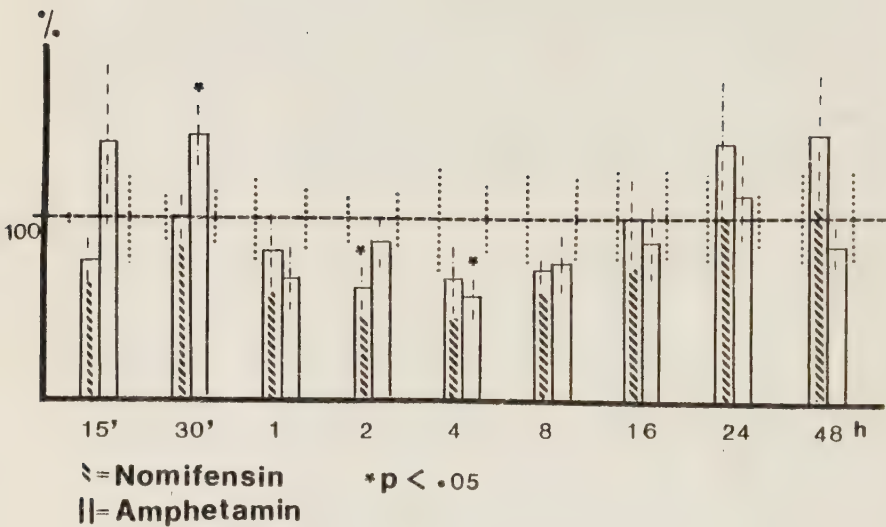


Abb. 7:

Einfluß von Amphetamin und Nomifensin auf die L-DOPA-Konzentration im Striatum des Rattenhirns nach Blockade der aromatischen Aminosäuredecarboxylase durch NSD 1015

Graphische Darstellung der Werte aus Tab. 5 und Tab. 6
Die vertikalen Punkte geben graphisch die Standardabweichungen der Mittelwerte der NSD-Kontrollwerte an

Signifikanzniveau $p < 0,05$ errechnet nach der Varianzanalyse nach KRUSKAL und WALLIS (s. LIENERT, 1973)

4. DISKUSSION

4.1. Synopsis der bekannten biochemischen Effekte von Nomifensin

Übereinstimmung besteht über einen wichtigen Wirkungsmechanismus des neuen Antidepressivums Nomifensin: Eine kompetitive Blockade der Aufnahme von biogenen Aminen in die Neuronen des Gehirns ruft eine Erhöhung der Transmitterkonzentrationen im synaptischen Spalt hervor und führt so zu einer Verstärkung der Wirkungen dieser Neurotransmitter (HUNT et al. 1974; SCHACHT und HEPTNER 1974). Die Stärke der Aufnahme-Hemmung für NA soll im Gehirn etwa derjenigen von DMI entsprechen, für DA soll die Nomifensin-induzierte Blockade stärker sein als die von Benzotropin (HUNT et al. 1974; FERRIS et al. 1972; SCHACHT und HEPTNER 1974). Über das Ausmaß der Aufnahme-Hemmung für 5-HT besteht noch keine Einigkeit: MAJ et al. (1976) berichten nach Gabe von 20 bis 40 mg/kg Nomifensin von einer deutlichen Erhöhung von 5-Hydroxyindolessigsäure im Hirn, einem Abbauprodukt des 5-HT. Dies könnte durch eine Aufnahmehemmung oder eine Synthesesteigerung nach Nomifensin-Gabe hervorgerufen werden. SCHACHT und HEPTNER (1974) und SAMANIN et al. (1975) widersprechen jedoch einem deutlichen Einfluß von Nomifensin auf den 5-HT-Stoffwechsel. Auch die Frage nach einer Nomifensin-induzierten Freisetzung von biogenen Aminen ist bisher noch nicht geklärt. SCHACHT und HEPTNER (1974) verneinen eine Freisetzung von NA und DA nach Nomifensin-Applikation, während BRAESTRUP und SCHEEL-KRÜGER (1976) den von ihnen gefundenen Anstieg der DA-Abbauprodukte DOPAC (= 3,4-Dihydroxyphenylelessigsäure) und HVA (=Homovanillinsäure) nach Nomifensin-Gabe mit einer vorangegangenen DA-Freisetzung erklären, die entweder von Nomifensin selbst oder aber einem der Metaboliten induziert werden soll. Bei solchen Nomifensin-Dosen, die bereits

Reserpin- antagonistisch wirken und Stereotypien hervorrufen, ist keine Steigerung der DA- und NA-Umsatzgeschwindigkeit zu beobachten. Erst bei sehr hohen Nomifensin-Gaben beschreiben GERHARDS et al. (1974) eine Steigerung der Umsatzgeschwindigkeit dieser Katecholamine im Striatum und Teldiencephalon.

Da die motilitätssteigernde Nomifensin-Wirkung durch Vorbehandlung mit α -Methyl-Tyrosin nicht antagonisierbar ist, vermuten COSTALL et al. (1975) als Ausdruck einer postsynaptischen Aktivität von Nomifensin oder -metaboliten eine direkte Rezeptorstimulation nach Unterbrechung der Synthese mit α -Methyl-p-Tyrosin. MAJ et al. (1976) postulieren einen Nomifensin-induzierten stimulierenden Einfluß auf die zentralen NA-Neuronen, da sie eine Potenzierung des Flexor-Reflexes bei der spinalen Ratte, einem Modell zur Prüfung der Wirkung auf die zentralen Neuronen, fanden.

4.2. Aussagen der eigenen Ergebnisse mit Nomifensin

Eine quantitative Aussage über das Ausmaß der NA-Aufnahme-Hemmung in vivo durch Nomifensin-Gabe ermöglicht die Ermittlung der Aufnahmeblockade für ^3H -NA. Dabei erweist sich Nomifensin mit einer ED_{50} von 0,70 mg/kg als zweitstärkster Hemmstoff. Die kompetitive Natur dieser Aufnahmeblockade zeigt die Hemmung der induzierten Entleerung mit Tyramin, Guanethidin und 6-OH-DA. Diese drei Pharmaka müssen durch die Axonmembran penetrieren, um in den sympatischen Nervenendigungen ihre Wirkungen zu entfalten: Tyramin bewirkt eine NA-Freisetzung (v.EULER 1973), Guanethidin hebt das Speicher- vermögen der Granula auf (CASS und SPRINGS 1961), und 6-OH-DA ruft eine selektive Degeneration der zentralen und peripheren NA-Neurone hervor (MALMFORS und THOENEN 1971).

Als Folge dieser Mechanismen kommt es zu einer Verarmung an NA in den Organen. Nach Vorbehandlung mit Nomifensin läßt sich eine Wirkungsverminderung der drei getesteten NA-Depletoren nachweisen, deren Ursache die Aufnahmehemmung ins Neuron ist.

Eine Freisetzung von NA und DA nach Nomifensin-Applikation kann in keinem unserer Versuche bewiesen werden. Weder im Rattenherzen noch -hirn ist - auch nach subakuter Behandlung - eine signifikante Veränderung der Katecholaminspiegel nachweisbar. Dies allein ermöglicht jedoch noch keine Aussage über eine fehlende Freisetzung nach Nomifensin-Gabe, da die unveränderten Herz- und Hirnspiegel von NA und DA auch durch eine gesteigerte Synthese bei gleichzeitiger Freisetzung zustandekommen können. Erst in Verbindung mit den L-DOPA-Versuchen läßt sich eine endgültige Feststellung treffen.

Die Blockierung der aromatischen Aminosäuredecarboxylase mit Hilfe von NSD 1015 ermöglicht eine Aussage über die Aktivität der Tyrosinhydroxylase in vivo. Die Größe der anschließenden L-DOPA-Anflutung ist abhängig vom Ausmaß der Synthese. Die Feststellung einer erhöhten Neubildungsgeschwindigkeit erlaubt den Rückschluß auf eine gesteigerte Freisetzung, da die beiden Vorgänge über die Aktivierung der Tyrosinhydroxylase gekoppelt sind. Andererseits schließt bei konstanter NA-Konzentration ein der Norm gegenüber verminderter L-DOPA-Spiegel eine Freisetzung aus. Die Applikation von Nomifensin verursacht im Striatum und im frontalen Cortex keine signifikante Erhöhung des L-DOPA-Spiegels, was für einen fehlenden Freisetzungseffekt spricht.

In der Zeitverlaufskurve sieht man nach 2 Stunden einen durch Nomifensin verursachten signifikanten Abfall der L-DOPA-Konzentration. Eine mögliche Erklärung ist die rückwirkende Hemmung der Tyrosinhydroxylase-Aktivität: Durch die Nomifensin-bedingte Aufnahmehemmung für DA kommt es zu einer Steigerung

der Transmitterkonzentration am Rezeptor. Dies reduziert rückwirkend über die Hemmung der Tyrosinhydroxylase die Katecholaminsynthese, so daß es zu einem Abfall des L-DOPA-Spiegels kommt.

4.3. Kongruenz bzw. Differenz der eigenen Ergebnisse mit Nomifensin im Vergleich mit Literatur-bekannten Daten

Unsere Versuche bestätigen auch in vivo am Herzen die durch Nomifensin hervorgerufene starke Aufnahmehemmung von NA, wie sie bereits für in vitro-Versuche an Synaptosomen von HUNT et al. (1974) und von SCHACHT und HEPTNER (1974) beschrieben wurde.

Die von BRAESTRUP und SCHEEL-KRÜGER (1976) beschriebene Freisetzung biogener Amine nach Nomifensin-Applikation können wir jedoch nicht bestätigen, da weder nach akuter noch nach subakuter Nomifensin-Behandlung in Herz und Hirn eine Veränderung der Katecholaminspiegel nachweisbar ist und eine gesteigerte NA- und DA-Synthese durch Nomifensin mit Hilfe der L-DOPA-Bestimmungsmethode nicht gezeigt werden kann.

4.4. Beurteilung der eigenen Ergebnisse mit den Vergleichssubstanzen DMI und Amphetamin im Licht der Literatur-bekannten Daten über diese Verbindungen

Das trizyklische Antidepressivum DMI ist als starker kompetitiver Membranpumpenblocker für NA bekannt (HERTTING et al. 1961; IVERSEN 1965; CARLSSON 1970; KIRSHNER et al. 1971; IVERSEN 1971 und 1973; BEVAN et al. 1975). Bei der quantitativen Bestimmung der Größe der Aufnahmehemmung erweist sich DMI auch bei unseren Versuchen als stärkster Hemmstoff mit

einer ED_{50} von 0,50 mg/kg. Die dosisabhängige Hemmung der Guanethidin- und 6-Hydroxydopamin-induzierten NA-Freisetzung durch DMI ist bereits von STONE et al. (1964), KOE und CONSTANTINE (1972) und SAMANIN et al. (1975) beschrieben worden. Nach Aussage von KOE und CONSTANTINE (1972) bewirkt die Applikation von DMI keine Änderung der NA-Konzentration im Herzen, was auch in unseren Versuchen bestätigt wird. Im Rattenhirn ist nach akuter und subakuter DMI-Behandlung keine signifikante Änderung des NA- und DA-Spiegels nachweisbar. Dies spricht in Verbindung mit dem unveränderten L-DOPA-Spiegel nach Hemmung der aromatischen Aminosäuredecarboxylase für einen fehlenden Freisetzungseffekt von DMI im Striatum und im frontalen Cortex, obwohl NEFF und COSTA (1966) und GERHARDS et al. (1974) eine gesteigerte NA-Umsatzgeschwindigkeit im Hirn beschrieben. Die von HEIKKILA et al. (1975) beschriebene schwache NA-Freisetzung im Cortex nach DMI-Applikation kann somit in unseren Versuchen nicht bestätigt werden.

Die mehrmalige Applikation von Amphetamin ruft auch in unseren Versuchen eine signifikante Senkung der NA-Konzentration im Rattenherzen hervor. Die Erklärung hierfür liegt in der Amphetamin-induzierten Entleerung der NA-Speicher (ENNA und SHORE 1974). Als Erklärung für den Abfall der NA-Spiegel im Hirn nach akuter und subakuter Behandlung kommt neben einer durch Amphetamin erhöhten Freisetzung eventuell die hemmende Wirkung der Amphetamin-Metaboliten p-Hydroxyamphetamin und p-Hydroxynorephedrin auf die Tyrosinhydroxylase in Frage (FUXE und UNGERSTEDT 1970): eine Syntheseverlangsamung wäre die Folge. Die signifikante Erhöhung des DA-Spiegels nach der zweiten Amphetamin-Applikation ist wahrscheinlich auf eine kompensatorische DA-Synthesesteigerung nach der Amphetamin-induzierten Freisetzung zurückzuführen (v.EULER 1973; HEIKKILA et al. 1975). PERSSON (1970) und COSTA et al. (1972) beschrieben außerdem eine vom Zeitpunkt der

Amphetamin-Gabe abhängige Steigerung der DA-Umsatzgeschwindigkeit. Das Absinken des DA-Spiegels auf das Kontrollniveau nach weiteren Amphetamin-Gaben ist eventuell auf eine Anhäufung von DA im Zytoplasma zurückzuführen, die eine hemmende Wirkung auf die Tyrosinhydroxylase ausübt. KEHR (1976) beschreibt dieses Phänomen für eine einmalige Dosis von 10 mg/kg Amphetamin. Die Kombination Amphetamin und Tyramin bewirkt keinen weiteren Abfall des NA-Spiegels im Rattenherzen, den man aufgrund der Wirkungsmechanismen beider Substanzen eigentlich erwarten könnte. Amphetamin nimmt wegen seiner guten Lipidlöslichkeit (IVERSEN 1974) das Membranpumpensystem zum Eindringen ins Axon nicht in Anspruch, hemmt die Pumpe aber trotzdem. Da Amphetamin zur Wirkungsentfaltung die gleichen Bindungsstellen in den Nervenendigungen benutzen soll wie Guanethidin (DAY 1962; DAY und RAND 1963), kann eine dosisabhängige Hemmung der Guanethidin-induzierten Entleerung aus den Speichern beobachtet werden. Bei der Kombination Amphetamin und 6-Hydroxydopamin liegt das Maximum der hemmenden Wirkung bei einer Amphetamin-Dosierung von 1 mg/kg. JONSSON und SACHS (1973) nehmen an, daß Amphetamin gleichzeitig mit dem NA aus den neusynthetisierten Speichern auch das ins Neuron aufgenommene 6-Hydroxydopamin z. T. freisetzt. Die Folge soll ein Absinken des hohen intraneuronalen 6-Hydroxydopamin-Spiegels, der die Neuronendegeneration induziert, unter die maximale Wirkkonzentration sein. Eine Dosis von 1 mg/kg Amphetamin bewirkt eventuell die größte Freisetzung von Katecholaminen, wie auch in den L-DOPA-Versuchen sichtbar wird. Im Striatum erzeugt Amphetamin in einer Dosierung von 2 mg/kg einen höheren Anstieg der L-DOPA-Konzentration als eine 5 mg/kg Dosis. Dieses Ergebnis stimmt mit der von KEHR (1976) gemachten Beobachtung überein, daß eine niedrige Amphetamin-Dosierung eine Katecholamin-Freisetzung mit reaktiv gesteigerter Neusynthese bewirkt. Höhere Amphetamin-Gaben dagegen führen über einen negativen Feedback-Mechanismus zu einer Hemmung der Tyrosinhydroxylase. Der von

Amphetamin hervorgerufene deutliche biphasische Verlauf der L-DOPA-Konzentrationskurve läßt sich folgendermaßen erklären: Der initiale Anstieg des L-DOPA-Spiegels ist wohl auf die Amphetamin-induzierte DA-Freisetzung zurückzuführen, die eine kompensatorische Steigerung der Neusynthese auslöst. Bisher ist jedoch der die Synthesesteigerung auslösende Faktor noch nicht bekannt, da bei Durchtrennung der nigro-striatalen Bahnen kein Impulsfluß als Informationsträger mehr möglich ist. Trotzdem findet man eine Syntheseerhöhung (CARLSSON et al. 1966; ANDEN et al. 1967; KEHR 1976). Die durch die Freisetzung bedingte Erhöhung des zytoplasmatischen DA-Spiegels verursacht über einen negativen Feedbackmechanismus eine Hemmung der Tyrosinhydroxylase, so daß es zu einer Drosselung der Transmittersynthese kommt. Dies ist an der signifikanten Erniedrigung des L-DOPA-Spiegels sichtbar.

4.5. Versuch einer Einordnung von Nomifensin an Hand der eigenen und Literatur-bekannten Daten zur Pharmakologie, Biochemie und Klinik in das Spektrum der antidepressiv wirkenden Substanzen

Aufgrund der biochemischen Wirkungsmechanismen und der klinischen Effekte muß man annehmen, daß sich Nomifensin von den trizyklischen Antidepressiva und dem zentralen Stimulans Amphetamin unterscheiden läßt. In den klassischen Tests zum Nachweis antidepressiver Eigenschaften wie Reserpin- bzw. Tetrabenazin-Antagonismus erweist sich Nomifensin z. T. als stärker als Vergleichssubstanzen aus der Gruppe der trizyklischen Antidepressiva (HOFFMANN 1973). Bei biochemischen Untersuchungen stellte sich heraus, daß ein wesentlicher Wirkungsmechanismus von Nomifensin eine kompetitive Aufnahmehemmung ist. Diese Blockade erstreckt sich nicht nur auf den NA- und, abgeschwächt gegenüber den trizyklischen Antidepressiva, 5-HT-Transport, sondern Nomifensin hemmt auch die Aufnahme von DA in die Neuronen (SCHACHT und HEPTNER 1974; HUNT et al.

1974; GERHARDS et al. 1974; SAMANIN et al. 1975; COSTALL et al. 1975). Im Gegensatz zu Amphetamin (SCHEEL-KRÜGER 1972) erhöht Nomifensin in therapeutischen Dosen nicht die Umsatzgeschwindigkeit für NA und DA. Auch die für Amphetamin beschriebene Hemmung der Monoaminoxidase ist nach Nomifensin-Applikation nicht nachweisbar (GERHARDS et al. 1974). Die zentral stimulierende Wirkung von Nomifensin unterscheidet sich deutlich von derjenigen des Amphetamin: Während die Amphetamin-Wirkung durch die Vorbehandlung mit α -Methyl-p-Tyrosin, einem Blocker der Katecholaminsynthese, antagonisierbar ist, läßt sich der Nomifensin-Effekt nur durch kombinierte Vorbehandlung mit α -Methyl-p-Tyrosin und Reserpin hemmen (GERHARDS et al. 1974; MAJ et al. 1976).

Bei der klinischen Anwendung zur Therapie von Depressionen unterschiedlicher Genese erweist sich Nomifensin als ebenso depressionslösend wie die Vergleichspräparate aus der Gruppe der trizyklischen Antidepressiva. Ein Vorteil ist jedoch die zusätzlich vorhandene antriebssteigernde Wirkung, die aber nicht so stark ausgeprägt ist wie bei Amphetamin.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Mit den Experimenten wurde versucht, in vivo den Einfluß von Nomifensin auf die Aufnahme, die Gleichgewichtsspiegel und die Neusynthese von Katecholaminen im Rattenherzen und -hirn zu bestimmen. Sie dienten dazu, das Tetrahydroisochinolinderivat Nomifensin als psychotropes Pharmakon biochemisch gegen die trizyklischen Antidepressiva und das zentrale Stimulans Amphetamin abzugrenzen.

Bei akuter (10 mg/kg) und subakuter (20 mg/kg) Nomifensin-Behandlung war weder im Herzen noch im Hirn eine signifikante Veränderung der endogenen NA- und DA-Spiegel feststellbar. Im Striatum und im frontalen Cortex konnte mit Hilfe der Bestimmung der L-DOPA-Konzentration keine Steigerung der Katecholaminsynthese nach Nomifensin-Applikation (10 und 20 mg/kg) nachgewiesen werden. Nomifensin (30, 10, 3,1 mg/kg) hemmte die durch Tyramin (40 mg/kg i.m.), Guanethidin (15 mg/kg i.p.) und 6-Hydroxydopamin (5 mg/kg i.v.) induzierte NA-Entleerung im Rattenherzen. Bei der Bestimmung der quantitativen Größe der Aufnahmehemmung von ^3H -NA erwies sich Nomifensin nach DMI (ED_{50} von 0,50 mg/kg) als zweitstärkster Hemmstoff mit einer ED_{50} von 0,70 mg/kg vor Amphetamin, Methylphenidat und Amitriptylin.

Das Vergleichspharmakon DMI bewirkte in vivo weder peripher noch zentral eine Änderung der endogenen Aminsiegel (10 mg/kg bei akuter und 20 mg/kg bei subakuter Verabreichung). DMI hemmte dosisabhängig (30, 10, 3,1 mg/kg) die durch Tyramin, Guanethidin und 6-Hydroxydopamin induzierte NA-Freisetzung. Ein stimulierender Einfluß auf die Katecholaminsynthese konnte im Striatum und im frontalen Cortex nicht nachgewiesen werden (10 mg/kg).

Amphetamin bewirkte nach akuter und subakuter Applikation (5 mg/kg) eine signifikante Senkung der NA-Konzentrationen in Herz und Hirn. Bei der Bestimmung der L-DOPA-Konzentration

im Striatum war bei einer Amphetamin-Dosierung von 2 mg/kg eine deutliche Erhöhung dieser DA-Vorstufe sichtbar. In der Zeitverlaufskurve (15 min bis 48 Stunden) rief eine Amphetamin-Dosis von 5 mg/kg einen deutlich biphasischen Verlauf des L-DOPA-Spiegels im Striatum mit initialem Anstieg und dann einem signifikanten Abfall hervor. Bei der Kombination Amphetamin und Tyramin war kein Schutzeffekt von Amphetamin gegenüber der Tyramin-induzierten NA-Entleerung sichtbar, während man bei den Versuchen mit Guanethidin und 6-Hydroxydopamin einen hemmenden Einfluß des Amphetamin sah.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- ANDEN, N.E., A.DAHLSTRÖM, K.FUXE and K.LARSSON :
Functional role of the nigro-striatal neurons.
Acta Pharmacol. (Kbh.) 24, 263 - 274 (1966)
- ANGST, J., M.KOUKKOU, M.BLEULER HERZOG und H.MARTENS :
Ergebnisse eines offenen und eines Doppelblindversuchs
von Nomifensin im Vergleich zu Imipramin.
Arch. Psychiat. Nervenkr. 219, 265 - 276 (1974)
- ANTON, A.H. and D.F. SAYRE :
A study of the factors affecting the aluminium-oxide-
3-hydroxyindole procedure for the analysis of
catecholamines.
J. Pharm. 138, 360 - 375 (1962)
- BARTH, N. und E. MUSCHOLL :
Die Rolle adrenerger Mechanismen bei der Entstehung von
Arrhythmien nach Einnahme von trizyklischen Anti-
depressiva.
Dtsch. med. Wschr. 101, 88 - 90 (1976)
- BEVAN, P., C.M. BRADSHAW and E. SZABADI :
Effects of DMI on neuronal responses to dopamine,
noradrenaline, 5-hydroxytryptamine and acetylcholine
in the caudate nucleus of the rat.
Br. J. Pharmac. 54, 285 - 293 (1975)
- BICKEL, M.H. :
Poisoning by tricyclic antidepressant drugs.
Int.J.Clin.Pharmacol. 11, 145 - 176 (1975)
- BRAESTRUP, C. and J. SCHEEL-KRÜGER :
Methylphenidate-like effects of the new antidepressant
drug nomifensine (HOE 984).
Europ.J.Pharmacol. 38, 305 - 312 (1976)

BURGEN, A.S.V. and L.L. IVERSEN :

The inhibition of noradrenaline uptake by sympathomimetic amines in the rat isolated heart.
Br.J.Pharmac. 25, 34 - 49 (1965)

CARLSSON, A., K. FUXE, B. HAMBERGER, M. LINDQVIST :

Biochemical and histochemical studies on the effects of imipramine-like drugs and (+)-amphetamine on central and peripheral catecholamine neurons.
Acta physiol.Scand. 67, 481 - 497 (1966)

CARLSSON, A., H. CORRODI, K. FUXE and T. HÖKFELT :

Effect of antidepressant drugs on the depletion of intraneuronal brain 5-hydroxytyramine stores caused by 4-methyl- α -ethyl-meta-tyramine.
Eur.J.Pharmac. 5, 357 - 366 (1969)

CARLSSON, A. :

Effect of drugs on amine uptake mechanisms in the brain.
in: New Aspects of Storage and Release Mechanisms of Catecholamines.
Eds. H.J. Schümann and G. Kroneberg, pp 223 - 233
Springer Berlin (1970)

CARLSSON, A., J.N. DAVIS, W. KEHR, M. LINDQVIST and C.V. ATACK:

Simultaneous measurement of tyrosine and tryptophan hydroxylase activities in brain in vivo using an inhibitor of the aromatic aminocid decarboxylase.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 275, 153 - 168 (1972)

CASS, R., T.L.B. SPRIGGS :

Tissue amine levels and sympathetic blockade after guanethidine and bretylium.
Br.J.Pharmac. 17, 442 - 450 (1961)

CHATTERJEE, S.S. :

Nomifensine.
Drugs of the Future 2, 72 - 76 (1976)

COPPEN, A. :

Role of serotonin in affective disorders.
in: Serotonine and Behaviour.
Eds. J.Barchas and E.Usdin, pp 523 - 527
Academic Press London (1973)

COSTA, E., A. GROPPETI and M.K. NAIMZADA :

Effects of amphetamine on the turnover rate of brain
catecholamines and motor acticity.
Br.J.Pharmac. 44, 742 - 751 (1972)

COSTALL, B., D.M. KELLY and R.J. NAYLOR :

Nomifensine: a potent dopaminergic agonist of anti-
parkinson potential.
Psychopharmac. (Berl.) 41, 153 - 164 (1975)

DAY, M.D. :

Effect of sympathetic amines on the blocking action of
guanethidine, bretylium and xylocholine.
Br.J.Pharmac. 18, 421 - 439 (1962)

DAY, M.D. and M.J. RAND :

Evidence for a competitive antagonism of guanethidine
by dexamphetamine.
Br.J.Pharmac. 20, 17 - 28 (1963)

ENNA, S.J. and P.A. SHORE :

On the nature of the adrenergic neuron extragranular
amine binding site.
J.Neur.Transm. 35, 125 - 135 (1974)

v.EULER, U.S. and F. LISHAJKO :

Effect of directly and indirectly acting sympathomi-
metic amines on adrenergic transmitter granules.
Acta physiol.Scand. 73, 78 - 92 (1968)

v.EULER, U.S. :

Drugs affecting the adrenergic transmitter release.
in: Fundamentals of Cell Pharmacology, pp 251 - 278
Ed. S. Dikstein
Charles C. Thomas - Publisher, Springfield, Ill. (1973)

FERRIS, R.M., F.L.M. TANG and R.A. MAXWELL :

A comparison of the capacities of isomers of amphetamin-deoxypipradol and methylphenidate to inhibit the uptake of tritiated catecholamines into rat cerebral cortex slices, synaptosomal preparations of rat cerebral cortex, hypothalamus and striatum and into adrenergic nerves of rabbit aorta.

J.Pharmacol.exp.Ther. 181, 407 - 416 (1972)

FUXE, K. and U. UNGERSTEDT :

Histochemical, biochemical and functional studies on central monamine neurons after acute and chronic amphetamine administration.

in: International Symposium on Amphetamine and Related Compounds.

Eds. E.Costa and S. Garattini, pp 257 - 288

Raven Press New York (1970)

GERHARDS, H.J., E. COSTA and A. CARENZI :

Effects of nomifensine on motor activity, dopamine turnover rate and cyclic 3'5 adenosine monophosphate concentrations of rat striatum.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmacol. 286, 49 - 63 (1974)

GLOWINSKI, J. and J. AXELROD :

Effect of drugs on the uptake, release and metabolism of ³H-norepinephrine in the rat brain.

J. Pharmacol.exp.Ther. 149, 43 - 49 (1965) .

HÄGGENDAHL, J. :

An improved method for fluorometric determination of small amounts for adrenaline and noradrenaline in plasma and tissues.

Acta physiol.Scand. 59, 242 - 254 (1963)

HANSON, L.C.F. :

Evidence that the central action of amphetamine is mediated via catecholamines.

Psychopharmac. (Berl.) 9, 78 - 80 (1966)

HEIKKILA, R.E., H. ORLANDSKY and G.COHEN :

Studies of the distinction between uptake inhibition and release of ³H-dopamine in rat brain tissue slices. Biochem. Pharmacol. 24 , 847 - 852 (1975)

HERTTING, G., J.AXELROD and L.G. WHITBY :

Effect of drugs on the uptake and metabolism of ³H-norepinephrine. J.Pharmacol.exp. Ther. 134, 146 - 153 (1961)

HOFFMANN, I., G. EHRHARD und K. SCHMITT :

8-Amino-4-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinoline, eine neue Gruppe antidepressiver Psychopharmaka. Arzneim.Forsch. 21, 1045 (1971)

HOFFMANN, I. :

8-Amino-2-methyl-4-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinoline, a new antidepressant. Arzneim.Forsch. 23 , 45 - 50 (1973)

HUNT, P., M.H. KANNENGIESSER and J.P. RAYNAUD :

Nomifensine: a new potent inhibitor of dopamine-uptake into synaptosomes from rat brain corpus striatum. J.Pharm.Pharmacol. 26, 370 - 371 (1974)

IVERSEN, L.L. :

The inhibition of noradrenaline uptake by drugs. Advanc. Drug Res. 2, 1 - 46 (1965)

IVERSEN, L.L. :

The uptake of biogenic amines.
in: Biogenic Amines and Physiological Membranes in Drug Therapy.
Eds. J.Biel and L.G.Abood, Part B, pp 259 - 327
Marcel Dekker New York (1971)

IVERSEN, L.L. :

Catecholamine uptake processes.
Br.Med.Bullet. 29, 130 - 135 (1973)

IVERSEN, L.L. :

Uptake mechanisms for neurotransmitter amines.
Biochem. Pharmacol. 23, 1927 - 1935 (1974)

JONSSON, G. and C. SACHS :

Pharmacological modifications of the 6-hydroxy-dopamine-induced degeneration of central noradrenergic neurons.
Biochem. Pharmacol. 22, 1709 - 1716 (1973)

KEHR, W. :

Wechselwirkung von Dopamin-Rezeptoragonisten und -antagonisten hinsichtlich Dopaminsynthese und -metabolismus.
Arzneim. Forsch. 26, 1086 - 1088 (1976)

KIELHOLZ, P. und W. PÜLDINGER :

Die Behandlung endogener Depressionen mit Psychopharmaka.
Dt. Med. Wschr. 93, 701 - 704 (1968)

KIRSHNER, N., S.M. SCHANBERG and R.M. FERRIS :

Molecular aspects of the storage and uptake of catecholamines.
in: Advances in Drug Research, Vol. 6, pp 121 - 156
Eds. N.R. Harper and A.B. Simmonds
Academic Press London, New York (1971)

KOE, B.K. and J.W. CONSTANTINE :

Blocking ³H-NE uptake and some guanethidine-induced effects with tricyclic psychotherapeutic drugs.
Arch. Int. Pharmacodyn. 195, 71 - 80 (1972)

LAPIN, I.P. and G.F. OXENKRUG :

Intensification of the central serotonergic processes as a possible determinant of the thymoleptic effect.
Lancet 1, 132 - 136 (1969)

LIENERT, G.A. :

Der KRUSKAL - WALLIS - H - Test.
in : Verteilungsfreie Methoden in der Biostatistik,
pp 263 - 270
Ed. G.A. Lienert , 2. Auflage
Hain Verlag, Meisenheim a.Gl. (1973)

LÖFFELHOLZ, K. und E. MUSCHOLL :

Der Einfluß von d-Amphetamin auf die Noradrenalin-
Abgabe aus dem isolierten Kaninchenherzen.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmak. 266, 393-394 (1970)

MAJ, J., Z. KAPTURKIEWICZ und J.MICHALUK :

Über die zentrale Wirkung von Nomifensin.
Arzneim.Forsch. 26, 1109 - 1111 (1976)

MALMFORS, T. and H. THOENEN :

6-Hydroxydopamine and Catecholamine Neurons.
North-Holland Publ.Co., Amsterdam (1971)

NEFF, N.H. and E. COSTA :

Effect of tricyclic antidepressants and chlorpromazine
on brain catecholamine synthesis.
Reprinted from Excerpta Medica Congress Series No. 122
Proceedings of the First International Symposium on
Antidepressant Drugs, Milan (April 1966)

NEFF, N.H., P.F. SPANO, A. GROPETTI, C.T. WANG and E. COSTA :

A simple procedure for calculating the synthesis rate
for norepinephrine, dopamine and serotonin in rat
brain.
J.Pharm.exp.Ther. 176, 701 - 710 (1971)

PECKNOLD, J.C., T.A. BAN, H.E. LEHMANN and A. KLINGNER :

A clinical trial with nomifensin, a new antidepressant
drug.
Int.J.Clin.Pharmacol.Biopharm. 11, 304 - 308 (1975)

PERSSON, T. :

Drug induced changes in ^3H -catecholamine accumulation
after ^3H -tyrosine.
Acta Pharmacol. (Kbh.) 28, 378 - 390 (1970)

RAITERI, M., G. LEVI and R. FEDERICO :

d-Amphetamine and release of ^3H -NE from synaptosomes.
Europ.J.Pharmacol. (Amst.) 28, 237 - 240 (1974)

RASENACK, U. und W. GATTENLÖHNER :

Trizyklische Antidepressiva: Klinik und Therapie der
Intoxikation.
Dt.Med.Wschr. 101, 1165 - 1168 (1976)

ROSS, S.B. and A.L. RENYI :

Tricyclic antidepressant agents.
Acta Pharmacol. (KBH.) 36, 382 - 394 (1975)

SAMANIN, R., S. BERNASCONI and S. GARATTINI :

The effect of nomifensine on the depletion of brain
serotonin and catecholamines induced respectively by
fenfluramine and 6-hydroxydopamine in rats.
Europ.J.Pharmacol. 34, 377 - 380 (1975)

SCHACHT, U. and W. HEPTNER :

Effect of nomifensine (HOE 984), a new antidepressant,
on uptake of noradrenaline and serotonin and on release
of noradrenaline in rat brain synaptosomes.
Biochem.Pharmacol. 23, 3413 - 3422 (1974)

SCHEEL-KRÜGER, J. and A. RANDRUP :

Stereotype hyperactive behaviour produced by dopamine
in the absence of noradrenaline.
Life Sci. 6, 1389 (1967)

SCHEEL-KRÜGER, J. :

Behavioural and biochemical comparison of amphetamine-
derivates.
Europ.J.Pharmacol. 18, 63 - 73 (1972)

SCHILDKRAUT, J.J. and S.S. KETY :

Biogenic amines and emotion.
Science (New York) 156, 21 - 30 (1967)

STONE, C.A., C.C. PORTER, J.M. STAVORSKI, C.T. LUDDEN and
J.A. TOTARO :

Antagonism of certain effects of catecholamine-depleting
agents by antidepressant and related drugs.
J.Pharmacol. 144, 196 - 204 (1964)

TRENDELENBURG, U. :

Factors influencing the concentration of catecholamines
at the receptors.
in: Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Vol. 33,
pp 726 - 761
Eds. H. Blaschko und E. Muscholl
Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1972)

WITTENBORN, J.R., C.F. FLAHERTY, W.E. MCGOUGH, U.A. BOSSANGE
and R.J. NASH :

A comparison of the effect of imipramine, nomifensin
and placebo on the psychomotor performance of normal
males.
Psychopharm. 51, 85 - 90 (1976)



L E B E N S L A U F

Am 26. April 1954 wurde ich in Fulda als erstes Kind des Arztes für Allgemeinmedizin Dr. med. Albert Schmitz und dessen Ehefrau Eva, geb. Richardt geboren.

Nach Besuch der Paul Gerhardt - Grundschule in Hünfeld wechselte ich auf das dortige Wigbert - Gymnasium über, an dem ich im Juni 1972 meine Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1972 nahm ich das Studium der Medizin an der Johannes Gutenberg - Universität in Mainz auf. Im Sommer 1974 legte ich die ärztliche Vorprüfung ab, im August 1975 den Ersten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung und bestand im März 1978 den Zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung.

Zur Zeit leiste ich das Praktische Jahr am Städtischen Krankenhaus Kemperhof in Koblenz ab.



Am Schluß dieser Arbeit möchte ich all denen danken, die zum Gelingen maßgeblich beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. E. Muscholl, dem Leiter des Pharmakologischen Institutes der Universität Mainz, sowie Herrn Prof. Dr. G. Vogel, dem Leiter der Abteilung Pharma-Forschung der HOECHST AG, Frankfurt-Höchst, für die Überlassung des Themas, die fachliche Beratung und die freundliche Bereitwilligkeit, jederzeit bei der Lösung auftretender Probleme zu helfen.

Herr Dr. H.J. Gerhards, Leiter des Psychopharmakologischen Labors der HOECHST AG, hat aufgrund seines Fachwissens viele wertvolle Hinweise und Anregungen gegeben, wofür ich ihm sehr zu Dank verpflichtet bin.

Den technischen Assistentinnen des Labors, besonders Frau R. Jung und Frau H. Klüh, gilt mein Dank für die Unterweisungen zur Durchführung der Versuche.

Die Untersuchungen wurden durch die großzügige Bereitstellung technischer Einrichtungen durch die HOECHST AG, Frankfurt-Höchst, ermöglicht,



